



AÇÃO GENOTÓXICA DO ETANOL NA LEVEDURA FT-858

SURIANO, Ezequiel Marques¹ (marquesezequiel32@gmail.com); **MUELLER, Larissa Pires²** (laripiresmueller@gmail.com); **SARABIA, Débora Tavares²**, (deborasarabia@hotmail.com); **SILVA, Rebeca Fasioli¹** (beca_fasioli@hotmail.com); **MASCARENHAS SANTOS, Maria do Socorro³** (mariamascrenhas@outlook.com); **BATISTOTE, Margareth⁴** (margareth@uems.br).

¹ Discente do curso de Ciências Biológicas da UEMS – Dourados;

² Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da UEMS – Dourados;

³ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da UEMS – Dourados;

⁴ Docente do curso de Química Industrial e Pós-Graduação em Recursos Naturais da UEMS – Dourados.

Os biocombustíveis são alternativas energéticas renováveis e contribuem de forma significativa para redução de gases tóxicos emitidos ao meio ambiente. Neste contexto, a produção de etanol no Brasil a partir do caldo a base de cana garante um cenário promissor e favorável para o agronegócio do Brasil. Nas dornas de fermentação, as leveduras são expostas a condições desfavoráveis de sobrevivência que induzem respostas celulares adaptativas que visam a sobrevivência destes microrganismos. Ainda que o etanol seja um dos subprodutos do metabolismo das leveduras, em altas concentrações ele é considerado um forte agente estressor capaz de alterar informações genéticas e bioquímicas levando a morte celular. Neste sentido, o uso de metodologias que avaliam impactos causados ao ácido desoxirribonucleico – DNA nas leveduras durante o processo fermentativo são indispensáveis para o discernimento de estratégias de aperfeiçoamento da indústria sucroenergética. Portanto, este trabalho visa avaliar o potencial efeito genotóxico do etanol na levedura FT-858 por meio do teste do cometa. A levedura foi crescida em meio YPD 2% estéril e incubada por 10 horas à 30 °C a 250 rpm. Após o crescimento, foram centrifugadas e lavadas por três vezes consecutivas em solução salina (NaCl 0,85%). A biomassa obtida, foi inoculada em frasco de Erlenmeyer contendo 50 mL de caldo de cana na concentração de 22° Brix e adicionado ao meio fermentativo 8% v v⁻¹ de etanol absoluto, sendo que a amostra controle não houve adição de etanol por 10 horas de fermentação. Para o teste do cometa as lâminas foram revestidas com agarose NMP e 90 µl de células foram homogeneizadas no tampão Sorbitol 1M e KH₂PO₄ 25mM. No meio reacional foram adicionadas as células a enzima Liticase e agarose LMP, esta mistura foi acrescentada sobre as lâminas sendo recobertas por lamínulas e incubadas a 30 °C durante 1:30 minutos. Posteriormente, as lâminas foram submetidas a solução de lise (NaOH 30mM, NaCl 1M, N-lauroylsarcosine 0,1%, DMSO 100mM, Triton X-100 1%), por 1 hora na ausência de luz. Foi realizada à eletroforese por 30 min, 25V, 300 mA, neutralizadas em tampão (Tris pH 7,0), fixadas e coradas com nitrato de prata. Foram analisadas 100 células por microscopia óptica e classificadas dentro de cinco níveis de danos ao DNA (0, 1, 2, 3 e 4), de acordo com intensidade e padrão de arraste do material genético degradado. Os resultados mostraram que ocorreram lesões genéticas na presença de 8% v v⁻¹ de etanol. Sendo que nos níveis 1 e 2 houve maior quantidade de danos ao DNA. O teste do cometa mostrou ser uma importante ferramenta para avaliar a ação genotóxica do etanol para a levedura FT-858.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*, teste do cometa, biocombustíveis.

Agradecimentos: Ao CNPq pela concessão de bolsa de iniciação científica ao primeiro e quarto autor, a CAPES pela concessão de bolsa de mestrado a segunda e terceira autora e ao PIBAP da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul-UEMS, por ceder bolsa de doutorado a quinta autora.