

### Discriminação intraespecífica de *Saccharomyces cerevisiae* por RAPD e ISSR

Gabriele Jardim Gross Teixeira<sup>1</sup>; Gildo Almeida da Silva<sup>2</sup>; Patrícia Valente da Silva<sup>3</sup>; Bruna Carla Agustini<sup>4</sup>

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) consiste em uma reação de polimerização em cadeia para a amplificação de uma sequência de DNA desejada por meio de uma reação enzimática. *Random Amplification of Polymorphic DNA* (RAPD) e *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) são técnicas baseadas em PCR, o que as diferencia são as temperaturas de pareamento. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi diferenciar 9 linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* pertencentes a Coleção de Microorganismos de Interesse Agroindustrial (CMIA), isoladas de diferentes regiões do Brasil. As linhagens de *Sacch. cerevisiae* estudadas foram: 91B84, 1VVT97, 02MB12, 38APB12, 50MBTF14, 29MSCL15, 45VSFCS10, 3MCBSf17 e 37GTEpUf17, com três *primers para RAPD e ISSR*. As reações foram compostas por 25µL. *Primer M13*: 2U Taq, 1x buffer Taq, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 2µM *primer*, 200 µM de dNTP e 1µL de DNA. *Primers* (GTG)<sub>5</sub> e (GAC)<sub>5</sub>: 1,5U Taq, 1x buffer Taq, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1µM *primer*, 200 µM de dNTP e 1µL de DNA. As condições de amplificação foram *primer M13*: um ciclo de desnaturação de 95 °C por 5 minutos, em seguida de 35 ciclos de: 95 °C por 30 segundos; 35 °C (RAPD) ou 55°C (ISSR) por 1 minuto; 72 °C por 1 minuto e um ciclo final de 72 °C por 10 minutos; para os *primers* (GTG)<sub>5</sub> e (GAC)<sub>5</sub>: 94 °C por cinco minutos; 40 ciclos de: 94 °C por quinze segundos; 35 °C (RAPD) ou 55°C (ISSR) por quarenta e cinco segundos; 72 °C por 1 minuto e 3 segundos e um ciclo final de 72 °C por 4 minutos. A partir de uma matriz binária de similaridade de bandas foi possível observar a diferenciação das linhagens apenas por meio do *primer* (GTG)<sub>5</sub> e apenas por RAPD em 3 perfis. Num grupo estão as linhagens 45VSFCS10, 3MCBSf17, 37GTEpUf17 e 91B84. Um outro é formado pelas linhagens 38APB12 e 50MBTF14. As linhagens 1VVT97, 02MB12 e 29 MSCL15 possuem outro perfil.

Apoio Financeiro: CAPES  
Registro SISGEN: A93F430

<sup>1</sup> Mestranda da UFRGS, Av. Paulo Gama, 110 - Farroupilha, CEP 90040-060, Porto Alegre, RS. E-mail: gabrielegross@gmail.com

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho, Rua Livramento, 515 - Conceição, CEP 95701-008, Bento Gonçalves – RS. E-mail: gildo.almeida@embrapa.br

<sup>3</sup> Docente da UFRGS, Av. Paulo Gama, 110 - Farroupilha, CEP 90040-060, Porto Alegre, RS. E-mail: patricia.valente@ufrgs.br

<sup>4</sup> Analista da Embrapa Uva e Vinho, Rua Livramento, 515 - Conceição, CEP 95701-008, Bento Gonçalves – RS. E-mail: bruna.agustini@embrapa.br