

EXTRAÇÃO DE DNA DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS: ADEQUAÇÃO DE PROTOCOLO.

Ana Karine Furtado¹; Laura Maria Bruno²; Ana Amélia de Queiroz¹; Maria de Fátima Borges²

¹Universidade Federal do Ceará¹; ²Embrapa Agroindústria Tropical, CP 3761, 60511-110, Fortaleza, CE, Brasil

Bactérias ácido lácticas (BAL) são bastante empregadas como culturas iniciadoras de produtos lácteos fermentados. Os principais gêneros de BAL encontrados nos produtos lácteos são: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* e *Enterococcus*. A microbiologia clássica identifica as espécies de BAL empregando técnicas que envolvem o cultivo dos microrganismos, seguidos de sua caracterização fenotípica. Muitas vezes tais métodos são pouco eficientes em separar espécies fenotipicamente relacionadas. Os métodos moleculares, por sua vez, apresentam como características a reprodutibilidade, automação e rapidez, sendo muitas vezes independentes de cultivo, podendo ser utilizados para confirmar a identificação clássica. O objetivo deste trabalho foi adequar um protocolo de extração de DNA para BAL. As extrações de DNA foram realizadas utilizando cepas padrões dos seguintes microrganismos: *Streptococcus thermophilus* NCDO 1968, *Lactococcus lactis* ATCC 14579 e *Lactobacillus plantarum* ATCC 8914. As principais variáveis testadas foram: concentração da suspensão bacteriana, concentração de lisozima e de proteinase K, emprego de soluções de clorofórmio e álcool isoamílico e de fenol-clorofórmio-álcool isoamílico. Considerando a pureza do DNA, o protocolo mais apropriado para *Streptococcus thermophilus* foi aquele no qual foram utilizadas soluções de fenol-clorofórmio-álcool isoamílico, lisozima a 4mg/mL e proteinase K a 6mg/mL. Para *Lactococcus lactis* o protocolo mais adequado foi o que empregou soluções de clorofórmio e álcool isoamílico separadamente, e soluções de lisozima e proteinase K nas concentrações de 0.5 mg/mL e 1mg/mL, respectivamente. Nenhum dos protocolos testados mostrou-se adequado para extração de DNA de *Lactobacillus plantarum*. Também foi observado que a concentração da suspensão celular não interferiu nos resultados da extração.

Agradecimentos: Projeto 03.04.1.16/Macroprograma 3 e CNPq