



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Uva e Vinho
Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento*

9º Encontro de Iniciação Científica e 5º Encontro de pós-graduandos da Embrapa Uva e Vinho

24 e 25 de novembro de 2011
Embrapa Uva e Vinho
Bento Gonçalves, RS

Resumos

Editores

*César Luís Girardi
Henrique Pessoa dos Santos
Lucimara Rogéria Antonioli
Luís Fernando Revers
Marcos Botton*

Bento Gonçalves, RS
2011

Primer universal para leveduras não detecta a presença de *Bacillus megaterium*

Rafaela Nalin¹, Bruna Carla Agustini², Patrícia Valente³, Tais Letícia Bernardi⁴, Gildo Almeida da Silva⁵

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) é utilizada para a detecção e identificação de microrganismos devido a robustez da técnica e rapidez na obtenção dos resultados. Entre as etapas envolvidas nesta metodologia estão a extração do DNA e a escolha dos oligonucleotídeos iniciadores (primer). Referindo-se a extração, os métodos comumente empregados, como por exemplo o fenol-clorofórmio, apresentam diversas etapas, o que além de tornar o processo lento, fazem uso de substâncias tóxicas. No Laboratório de Microbiologia tem sido usado um processo de extração de DNA que consiste no congelamento-descongelamento dos microrganismos em meio aquoso, provocando lise celular com conseqüente extrusão do material genético. Esta tecnologia tem sido testada exaustivamente com um primer universal especialmente construído para amplificar um segmento de 375-pb da região 18S do rDNA com o objetivo de detectar leveduras. Esta tecnologia já foi encaminhada ao INPI para pedido de patente. No entanto, para a conclusão deste pedido, foi questionada a capacidade do primer em também amplificar segmentos de DNA de bactérias. Assim, o objetivo deste trabalho foi mostrar que o par de primer era específico apenas para leveduras. Para tanto, o primer foi testado nas condições de amplificação (desnaturação, pareamento e alongamento) descritas no pedido, utilizando levedura *Saccharomyces cerevisiae* e a bactéria *Bacillus megaterium*. Os resultados mostraram que o uso do protocolo estabelecido promoveu a amplificação do fragmento de DNA esperado (375-pb), mas não amplificou qualquer segmento de DNA da bactéria citada. Posteriormente, serão efetuados testes com outros gêneros e espécies de bactérias.

¹Graduanda UCS/CARVI. Alameda João Dal Sasso, 800, 95700-000, Bento Gonçalves, RS, Brasil. Estagiária Embrapa Uva e Vinho. Bolsista CNPq/Fapergs. rafaelanalin@gmail.com

²Doutoranda UFPR. Av. Lothário Meissner, 638, 80050-520, Curitiba, PR, Brasil. Estagiária Embrapa Uva e Vinho. Bolsista REUNI/CAPES. brunacarla@yahoo.com

³Docente UFRGS. Porto Alegre, RS, Brasil. patricia.valente@ufrgs.br

⁴Docente IFRS/Sertão. Sertão, RS, Brasil. tislesticia@yahoo.com.br

⁵Pesquisador Embrapa Uva e Vinho, Caixa postal 130, 95700-000, Bento Gonçalves, RS, Brasil. gildo@cnpv.embrapa.br