



Nº 111 – O DESAFIO DE ENCONTRAR O MELHOR PROTOCOLO PARA A EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO PARA O UMBUZEIRO

MARIA SUZANA OLIVEIRA DA SILVA.; NATALI APARECIDA SANTANA*.; CRISLAINE COSTA CALAZANS*.; FERNANDA EVANGELISTA ALMEIDA.; JULIANA LOPES SOUZA*.; RENATA SILVA-MANN, Universidade Federal de Sergipe (UFS)

OBJETIVOS

Estabelecer protocolo de extração de DNA para estudos sobre a diversidade genética do umbuzeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

A extração foi realizada a partir de folhas jovens coletadas em Nossa Senhora da Glória-SE. Com três protocolos (I, II e III) baseados na metodologia proposta por Nienhuis (1995) com modificações entre eles.

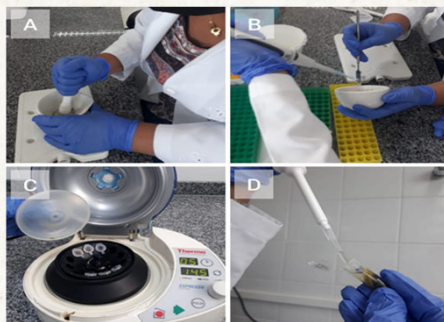


FIGURA 1. A - Maceração das folhas; B - Adição do mercaptoetanol; C - Centrifugação; D - Separação da fração contendo DNA de restos vegetais. UFS, São Cristóvão, SE.

RESULTADOS

A qualidade do DNA obtido foi avaliada por meio da quantificação em leitura no nanoespectrofotômetro Epoch Biotek®, através dos dados de concentração e relação 260/260, estão disponíveis na Tabela 1.

TABELA 1. Quantificação de DNA (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.). UFS, São Cristóvão-SE:

Matriz	Protocolo I		Protocolo II		Protocolo III	
	(ng/μL)	260/280	(ng/μL)	260/280	(ng/μL)	260/280
1	101,28	1,603	15.9	1.12	42,0	3,206
2	69,1	2,003	2	0.444	17,5	1,733
3	44,0	2,444	16.1	1.437	37,08	1,248
4	58,9	2,475	9.8	1.065	42,2	1,421
5	251,2	0,697	14.9	1.202	52,7	1,751
6	103,9	1,823	15	1.128	20,0	1,675
7	147,7	1,694	0.4	0.111	6,8	-3,40
8	222,4	1,227	-1.9	-0.704	26,9	2,98
9	512,5	1,290	-0.7	2.333	49,3	1,366
10	530,4	1,594	23.9	1.366	126,9	1,383
11	254,3	1,467	7.6	1.551	103,1	1,550
12	151,1	1,262	144.3	1.103	52,6	2,505
13	89,1	1,747	0.6	1	84,3	2,594
14	254,5	1,435	-4.2	-21	104,3	2,588

As quantidades da solução β-mercaptoetanol de 700 μL no protocolo I e III, 600 μL protocolo II, e o tempo na centrifugação de 20 minutos a 12.000 rpm (I e II), e por 10 minutos a 10.000 rpm (III), foram significativas. Os resultados foram irrelevantes para as folhas armazenadas em solução CTAB (III) e para a troca do álcool acetato de amônia por isopropanol (II).

CONCLUSÃO

Para a pureza do DNA, a relação 260/280 devem apresentar valores próximo de 1,8 a 2,2. Concentrações menores que 10 ng/μL dificultam as replicações das análises por impossibilitar o armazenamento de amostras estoque. Assim, o protocolo I é o mais indicado para a extração de DNA do umbuzeiro.

AGRADECIMENTOS

*Capes; CNPq.