

O DESAFIO DE ENCONTRAR O MELHOR PROTOCOLO PARA A EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO PARA UMBUZEIRO

Maria Suzana Oliveira da Silva^{1*}; Natali Aparecida Santana¹; Crislaine Costa Calazans¹; Fernanda Evangelista de Almeida¹; Juliana Lopes Souza¹; Renata Silva-Mann¹

¹Universidade Federal de Sergipe (UFS). *E-mail do autor apresentador: *suzanamaosilva@gmail.com

O Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda) é uma árvore de ocorrência natural exclusiva do Semiárido brasileiro que têm despertado interesse científico devido às suas potencialidades sócio e bioeconômicas. Listada como uma das plantas que pode estar sendo ameaçada de extinção por diversos fatores, principalmente a fragmentação florestal e exploração extrativista, a espécie apresenta escassez de informações genéticas e manejo. Dessa forma, o estudo objetivou estabelecer um protocolo de extração de DNA para futuros estudos sobre a diversidade genética do umbuzeiro. A extração do DNA genômico foi realizada a partir de folhas jovens coletadas de 14 matrizes situadas no povoado Lagoa dos trigos em Nossa Senhora da Glória-SE. Foram empregados três protocolos (I, II e III) baseados na metodologia proposta por Nienhuis (1995) com modificações. No protocolo I, as folhas foram armazenadas em saco de papel e resfriadas a -20 °C, maceradas em cadinhos com adição de Nitrogênio líquido, 700 µL de CTAB 2%, uma pitada de depolivinilpirolidona (PVPP) e 50 µL de beta-mercaptoetanol. Em seguida, o macerado foi transferido para tubos de 1.5 mL, levados ao banho-maria (65°C) por 30 minutos. Posteriormente, foi adicionado nas amostras, 700 µL de clorofórmio álcool isoamílico (24:1) e colocados em centrífuga a 12.000 rpm por 20 minutos. O sobrenadante foi pipetado para novos tubos, adicionados 1.000 µL de álcool:acetato de amônio e incubadas a -20°C por uma noite. Foram então centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos. Em seguida, foram lavadas com etanol 70% e solubilização em 50 µL TE. Para o protocolo II, as modificações ocorreram na adição do isopropanol, 600 µL no lugar do álcool acetato de amônia, e ao final lavados com álcool 70% por três vezes. Já no protocolo III, utilizou-se folhas armazenadas em solução CTAB, com adição de 700 µL de solução de CTAB 2% na maceração, após o banho-maria foi adicionado 600 µL de clorofórmio álcool isoamílico (24:1), e em seguida, centrifugados a 10.000 rpm por 20 minutos. A qualidade do DNA obtido foi avaliada por meio da quantificação em leitura em nanoespectrofotômetro Epoch Biotek®. As amostras de DNA adquiridas apresentaram concentrações variando de 44,0 a 530,4ng/µL no protocolo (I); -4,2 a 144,3ng/µL protocolo (II) e 6,8 a 126,9ng/µL protocolo (III). Quanto à qualidade do DNA obtido empregou-se a razão das leituras 260 e 280, que variou de 0,697 a 2,44 (I); -21 a 2,33 (II) e -3,40 a 3,206 (III) com 10 matrizes com padrões de qualidade fora dos valores de 1,8 a 2,2, sendo o protocolo I o indicado para a extração de DNA do umbuzeiro.

Palavras-chave: Diversidade genética; *Spondias tuberosa*.

Agradecimentos: Capes; CNPq.