



PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA A PARTIR DE RAÍZES DE PESSEGUEIRO

Roberta B. Kneib¹; Mariane da R. Schüller²; Raquel B. Kneib³; Natércia L. Pinheiro⁴; Caroline M. Castro⁵

¹Estudante do curso de Graduação em Agronomia, UFPel, bolsista de iniciação científica do CNPq. E-mail: robertakneib@yahoo.com.br;

²Graduada em Ciências Biológicas, Faculdade Anhanguera

³ Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia - Fitomelhoramento, UFPel, bolsista da CAPES.

⁴Química, analista da Embrapa Clima Temperado.

⁵Eng. Agrônoma, Doutora, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado.

O DNA genômico pode ser extraído de diferentes partes da planta. As folhas frescas são utilizadas como padrão, já tecidos rígidos, como raízes de espécies arbóreas, exigem tratamentos especiais para o isolamento de um DNA com qualidade e quantidade suficiente para a realização de estudos moleculares. Independente do tipo de tecido vegetal, os métodos de extração de DNA apresentam etapas comuns: maceração mecânica, a liberação do DNA em tampão de extração e a purificação da molécula de DNA. Nesse sentido, foram testados seis protocolos para extração de DNA com o objetivo de estabelecer uma metodologia para a extração de DNA a partir de raízes de pessegueiro. Foram testados os seguintes protocolos: 1.) Kit comercial da INVITROGEN; 2.) Doyle & Doyle; 3.) Doyle & Doyle modificado, onde foi adicionado NaCl 5M ao isopropanol e acrescentada uma etapa de lavagem do DNA precipitado com Acetado de potássio 3M; 4.) DArT™; 5.) Mazza & Bittencourt; 6.) Ferreira & Grattapaglia modificado, com a mesma alteração do protocolo 3. O DNA extraído foi quantificado em fluorômetro e a análise da qualidade do DNA isolado foi realizada em espectrofotômetro, com leituras em OD260 e OD280. A razão OD260/OD280 indica a pureza, valores entre 1,8 e 2,0 indicam que a absorção é devido aos ácidos nucléicos, valores acima ou abaixo indicam contaminações. A análise de variância foi altamente significativa, mostrando que há diferenças entre os protocolos analisados. Os resultados mostram que os protocolos 2 e 6 se sobressaem aos demais protocolos avaliados na extração de DNA de raízes de porta-enxertos de pessegueiro. Entretanto, ao analisar a qualidade do DNA, o protocolo 6 foi melhor. Com base nos resultados, o protocolo 6 se sobressaiu aos demais protocolos avaliados, sendo o mais indicado para extrair DNA de raízes de porta-enxertos de pessegueiro em quantidade e qualidade suficiente para análises moleculares.

Agradecimentos: CNPq