



ANAIS - II CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS

11-SESSÃO PÔSTER 03
27/09/2012 17:00-18:00
CAMAROTE A/B

[Trabalho 551]

 **Clique para abrir o Artigo Completo/Click to open the paper**

VEGETAL
AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO TOTAL EM MENTHA ARVENSIS L.
MARIA FERNANDA DA COSTA GOMES; MARILHA VIEIRA DE BRITO; JOÃO PAULO GOMES VIANA; SÉRGIO EMÍLIO DOS SANTOS VALENTE; MARCONES FERREIRA COSTA; CAMILA CAMPÊLO DE SOUSA; SULIMARY OLIVEIRA GOMES; GISELE HOLANDA DE SÁ; PAULO SARMANHO DA COSTA LIMA;
UFPI, TERESINA, PI, BRASIL;
marilhavieirabrito@hotmail.com

Resumo:

A espécie *Mentha arvensis* L., conhecida popularmente como vick, é uma importante fonte de óleos essenciais usados principalmente em aromatizantes, indústria farmacêutica e como condimento alimentar. Devido seu valor econômico, torna-se importante a realização de estudos moleculares, muitos destes baseados em marcadores de DNA. Avaliou-se então, o desempenho de diferentes métodos de extração de DNA em *Mentha arvensis* L., onde se aplicou quatro protocolos de extração de DNA vegetal. As amostras foram quantificadas em gel de agarose a 0,8%. Observou-se que apenas dois dos quatro métodos aplicados resultaram em DNA e que houve diferenças quanto à qualidade das amostras. Entre os métodos que foram eficientes para o isolamento de DNA em *Mentha arvensis* L., observa-se que em um deles, as amostras apresentaram quantidades constantes de DNA, enquanto o outro, apesar de ter resultado em boas concentrações de DNA, as diferentes amostras não apresentaram concentrações constantes. Verificou-se que houve co-isolamento de RNA nas amostras, esta condição é devida ao fato de não haver sido aplicada RNase durante o processo de extração. Após o estudo, sugere-se então o método que apresentou DNA de qualidade e em quantidade satisfatória para estudos moleculares.



AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO DE DNA

GENÔMICO TOTAL EM *Mentha arvensis* L.

Resumo: A espécie *Mentha arvensis* L., conhecida popularmente como vick, é uma importante fonte de óleos essenciais usados principalmente em aromatizantes, indústria farmacêutica e como condimento alimentar. Devido seu valor econômico, torna-se importante a realização de estudos moleculares, muitos destes baseados em marcadores de DNA. Avaliou-se então, o desempenho de diferentes métodos de extração de DNA em *Mentha arvensis* L., onde se aplicou quatro protocolos de extração de DNA vegetal. As amostras foram quantificadas em gel de agarose a 0,8%. Observou-se que apenas dois dos quatro métodos aplicados resultaram em DNA e que houve diferenças quanto à qualidade das amostras. Entre os métodos que foram eficientes para o isolamento de DNA em *Mentha arvensis* L., observa-se que em um deles, as amostras apresentaram quantidades constantes de DNA, enquanto o outro, apesar de ter resultado em boas concentrações de DNA, as diferentes amostras não apresentaram concentrações constantes. Verificou-se que houve co-isolamento de RNA nas amostras, esta condição é devida ao fato de não haver sido aplicada RNase durante o processo de extração. Após o estudo, sugere-se então o método que apresentou DNA de qualidade e em quantidade satisfatória para estudos moleculares.

Palavras chaves: extração de dna, *Mentha arvensis* L., vick

Introdução

A espécie *Mentha arvensis* L. é uma planta medicinal e aromática, conhecida popularmente como vick, pertencente à família das Labiatae e seu óleo essencial, rico em mentol, é usado como aromatizante e em fragrâncias, na indústria farmacêutica e como condimento alimentar. Alguns produtos comerciais dessa espécie são o óleo essencial de menta, o mentol cristalizado a partir do óleo essencial, o óleo essencial desmentolado e outros monoterpenos acionados a partir do óleo desmentolado (SRIVASTAVA et al., 2002).

Tendo em vista a importância econômica de *Mentha arvensis* L. faz-se necessário a caracterização molecular dessa espécie. O primeiro passo para se realizar a caracterização molecular de qualquer planta medicinal é a padronização do protocolo de isolamento do DNA (TIWARI; JADHAV; GUPTA, 2012).



O objetivo do presente trabalho foi identificar, entre quatro protocolos de extração, o mais eficiente para a espécie *Mentha arvensis* L. em termos de quantidade e qualidade de DNA para a realização de futuros estudos moleculares que possam auxiliar em programas de melhoramento genético e/ou em estudos evolutivos e de diversidade genética.

Material e Métodos

As amostras de tecido foliar foram coletadas no Núcleo de Plantas da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e acondicionadas em isopor® com gelo onde foram transportadas para o Laboratório de Análises de Solos (LASO), localizado no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da mesma instituição, onde foram conduzidas as extrações.

Os protocolos testados foram os descritos por, Dellaporta et al. (1983), Grattapaglia e Sederoff (1994), Romano e Brasileiro (1998) e Khanuja et al. (1999). A quantidade de tecido foliar, foi padronizada em 40 mg por amostra que foi submetida à extração, seguida das devidas alterações proporcionais dos reagentes. As amostras foram quantificadas no laboratório de Biologia Molecular da EMBRAPA - Meio Norte/Teresina-Piauí, por meio de eletroforese em gel de agarose a 0,8%, submetida a 110V durante 1 hora e 20 minutos, utilizando o agente intercalante GelRED® e o Azul de Bromofenol. As bandas de DNA foram visualizadas por luz ultravioleta (UV) e comparadas com o marcador de DNA de fago λ com concentração conhecida de 100 ng/ μ L. Esses padrões foram fotografados com equipamento MiniBISPro®.

Resultados e Discussão

Ao observar o perfil eletroforético das amostras foi possível verificar que houve diferenças entre os quatro protocolos utilizados, onde apenas dois destes protocolos foram eficientes para isolamento de DNA de *Mentha arvensis* L. em quantidade adequada para estudos moleculares. Os protocolos propostos por Grattapaglia e Sederoff. (1994) e Dellaporta et al. (1983) se mostraram insatisfatórios para a extração de DNA de *Mentha arvensis* L., tanto em relação à quantidade quanto à qualidade do DNA isolado (Figura 1).

O protocolo descrito por Khanuja et al. (1999) foi o mais eficiente para isolamento de DNA de *Mentha arvensis* L., pois além das amostras apresentaram alta quantidade de DNA, estas quantidades foram constantes em todas as amostras, isso serve como indicativo

de previsibilidade, logo é possível prever a quantidade de DNA extraído de determinada massa de tecido foliar através do uso do protocolo descrito por Khanuja et al. (1999).

Houve coisolamento de RNA em todas as amostras. O RNA pode ser eliminado com tratamento com RNase, no momento da diluição das amostras. O protocolo de Romano e Brasileiro (1998) apesar de ter sido eficiente para o isolamento de boas quantidades de DNA, boa parte deste se apresentava degradado.

λ VR VR VR VR VG VG VG VG VD VD VD VD VK VK VK VK

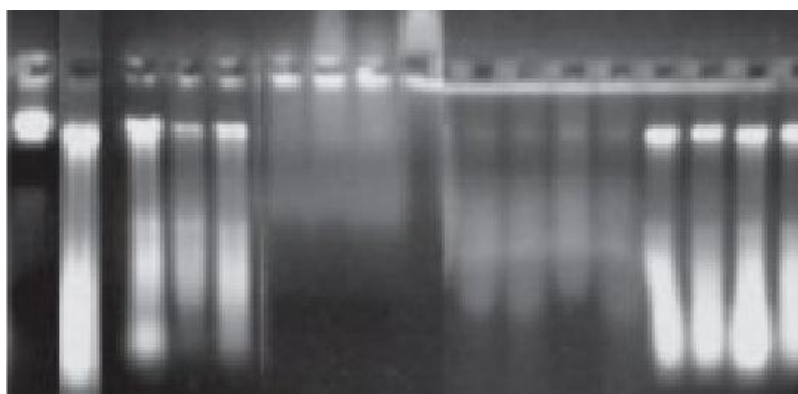


Figura 1: Perfil eletroforético do DNA de *Mentha arvensis L.*, em gel de agarose a 0,8%, com a presença do marcador de DNA de fago λ. VR = extração de DNA em vick utilizando o protocolo de Romano e Brasileiro (1998), VG = extração com o protocolo de Grattapaglia e Sederoff (1994), VD = protocolo de Dellaporta et al. (1983) e VK = protocolo de Khanuja et al. (1999).

Conclusão

Com base nos resultados obtidos e nas condições em que se realizou o presente trabalho, conclui-se que os métodos descritos por Khanuja et al. (1999) e Romano e Brasileiro (1998), apresentaram DNA de quantidade adequada para futuros estudos moleculares que possam auxiliar em programas de melhoramento genético e/ou em estudos evolutivos e de diversidade genética.



Referências Bibliográficas

DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J. & HICKS, J.B. 1983. A plant minipreparation: version II. **Plant Molecular Biology Reporter** 1 (4): 19-20.

GRATTAPAGLIA, D.; SEDEROFF, R. 1994. In: **Ferreira, M. E. & Grattapaglia, D. 1995. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas.** 2a ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN.

KHANUJA, S.P.S.; SHASANY, A.K.; DAROKAR, M.P. & KUMAR, S. 1999. Rapid isolation of DNA from dry and fresh samples of plants producing large amounts of secondary metabolites and essential oils. **Plant Molecular Biology Reporter** 17: 1-7.

ROMANO, E. & BRASILEIRO, A.C. 1998. Extração de DNA de tecidos vegetais. In: **Brasileiro, A.C.M. & Carneiro, V.T.C. Manual de transformação genética de plantas.** 1998. Brasília. EMBRAPA-SPI/EMBRAPA- CENARGEN.

SRIVASTAVA, R.K.; SINGH, A.K.; KALRA, A.; TOMAR, V.K.S.; BANSAL, R.P.; PATRA, D.D.; CHAND, S.; NAQVI, A.A.; SHARMA, S.; KUMAR, S. Characteristics of menthol mint *Mentha arvensis* cultivated on industrial scale in the Indo-Gangetic plains. **Industrial Crops and Products.** v.15, p.189-198, 2002.

TIWARI, K. L.; JADHAV, S. K.; GUPTA, S. Modified CTAB Technique for Isolation of DNA from some Medicinal Plants. **Res. J. Med. Plant,** v.6, p.65-73, 2012.