

Comparação entre os métodos “*salting out*” e CTAB na extração de DNA de minhocas

Eliza Fabíola Busch

Mestranda em Ciência do Solo, Universidade Federal do Paraná

George Gardner Brown

Engenheiro-agrônomo, Doutor, Pesquisador da Embrapa Florestas

george.brown@embrapa.br

Guilherme Schnell e Schühli

Biólogo, Doutor, Pesquisador da Embrapa Florestas, guilherme.schuhli@embrapa.br

Diversas técnicas de biologia molecular estão disponíveis para a avaliação da diversidade genética. A caracterização dessa diversidade pode ser feita por meio de técnicas moleculares que envolvem a avaliação de diferentes níveis de polimorfismos no DNA. Esta avaliação depende do processo de extração de DNA. No processo de extração considera-se importante não só a obtenção eficiente da maior quantidade de DNA, mas também a obtenção da maior avaliar qualidade de DNA genômico. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo dois protocolos de extração, “*salting out*” (MILLER et al., 1988) e CTAB, brometo de cetil-trimetilamônio (DOYLE & DOYLE, 1990) considerando sua eficiência na extração de DNA de minhocas. Para isto foram selecionados quatro exemplares de *Amyntas* spp. Destes exemplares foram extraídos pedaços de seu tecido muscular medindo aproximadamente 0,4 cm x 0,4 cm. Estas amostras foram submetidas a ambos os protocolos de extração e posteriormente a uma PCR com os primers HCO2198 e LCO1490 para amplificação de um fragmento de cerca de 640 pb como prova de conceito. A concentração do DNA foi avaliada por espectrofotômetro e a integridade das bandas amplificadas foi avaliada em gel de agarose a 1,5 %. A concentração média de DNA pelo protocolo “*salting out*” foi de 187,5 ng/ul, e com CTAB 584 ng/ul. Isto nos sugere maior eficiência em quantidade de DNA do protocolo CTAB. Quando estas amostras foram submetidas ao PCR, o protocolo CTAB sobressaiu-se na qualidade dos produtos amplificados. Temos como conclusões que, em relação ao processo de “*salting out*”, o protocolo de CTAB é mais conveniente para imediata extração de DNA de minhocas.

Palavras-chave: CTAB; oligochaetas; PCR.

Apoio/financiamento: CAPES, CNPq.