



ADAPTAÇÃO DE PROTOCOLOS EM MINI ESCALA PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE *Digitaria insulares*

Jéssica Carvalho Sindô (estagiária)¹, Talyta Mayara dos Reis Zanato (estagiária)¹, Alexandre Ferreira da Silva (Pesquisador CNPMS)², Anderson Ferreira (orientador)³

Digitaria insularis, popularmente conhecida como capim-amargoso, é uma espécie perene, herbácea, entouceirada, ereta, rizomastosa, de colmos estriados, com 50 a 100 cm de altura que apresenta resistência ao glyphosate em plantas adultas com rizomas já formados. A variabilidade genética é uma característica natural das plantas daninhas, assim a biologia molecular tem sido utilizada, principalmente, em estudos populacionais. Para o uso dessas técnicas moleculares os protocolos de extração de DNA devem possibilitar a obtenção amostras com boa qualidade e quantidade. Com o presente trabalho objetivou-se adaptar procedimentos em mini-escala para a extração de DNA da espécie *Digitaria insulares*. O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Agrossilvipastoril. As amostras foram folhas jovens de capim-amargoso coletadas no campo experimental da Unidade, lavadas em água ultra pura e armazenadas a -20°C. Para cada procedimento foram maceradas duas subamostras de 200mg, exceto o último no qual foram 40mg, além de dois controles negativo, sem material vegetal. Foram testados sete procedimentos. Os procedimentos avaliados foram: (1) Baseado em Saghai – Maroof et al (1984); (2) Baseado em Sambrooke Fritsch (1989); (3) Baseado em Doylee Doyle (1990); (4) Baseado em Ferreira et al. (2004); (5) Baseado em Scheuermann (2002); (6) Baseado em Scott (1993); (7) Kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit. A quantificação foi realizada por eletroforese em géis de agarose 0,8% por 60 min a 80V. Os géis foram corados com Gel Red® e fotodocumentados. O marcador de 1 Kb foi usado como indicador de migração nos géis. O procedimento 06 forneceu DNA em grande quantidade indicando o sal para precipitação de proteínas, porém resíduos de sal podem inviabilizar o uso para algumas técnicas de biologia molecular. Os procedimentos 03, 04 e 07 foram os que apresentaram as maiores quantidades de DNA. As principais diferenças entre os protocolos 03 e 04 é que o procedimento 04 usa SDS e o outro usa CTAB como detergente e o procedimento 03 tem maior tempo de incubação do que o procedimento 04, além de serem procedimentos competentes na extração em relação à quantidade de DNA, esses dois procedimentos não fazem uso de fenol, reagente tóxico e que pode ser um problema no tocante ao descarte correto dos resíduos. O protocolo 07 é um kit comercial já consolidado, tendo em sua composição todas as características necessárias à uma boa extração além de ser o procedimento mais rápido entre todos os testados, entretanto é o menos atrativo em relação aos custos. Os protocolos 3 e 4 apresentaram presença de RNA na corrida de eletroforese o que indica necessidade de tratamento posterior com RNase, o protocolo 7 já contém tratamento para RNA e por isso resulta em uma extração de DNA sem contaminação por RNA. No entanto, o custo do uso de Kits de extração para os estudos moleculares supera o custo-benefício, o que torna os procedimentos 3 e 4 os mais atrativos para trabalhos com esta espécie vegetal. Palavras-chave: Extração de DNA, Planta daninha, Biotecnologia.

Apoio: CPAMT, CNPMS.

Área: Biologia Molecular.

¹Faculdade de Sinop – FASIPE - e-mail: jessicasindo.bm@gmail.com, talytazanato@hotmail.com

² Embrapa Milho e Sorgo - e-mail: afsagro@gmail.com

³ Embrapa Agrossilvipastoril - e-mail: anderson.ferreira@embrapa.br