



Categoria: Mestrado

Biotecnologia

Isolamento do DNA total de raízes de plantas de cana-de-açúcar em três estágios de crescimento cultivadas em solo

Cleudson Gabriel Nascimento da Silva¹; Edevaldo de Castro Monteiro²; Veronica Massena Reis³; Segundo Urquiaga³; Jean Luiz Simões de Araújo³

¹Mestrando em Fitotecnia, UFRRJ, cleudson@msn.com; ²Doutorando em Ciência do Solo, UFRRJ; ³Pesquisador Embrapa Agrobiologia, veronica.massena@embrapa.br; segundo.urquiaga@embrapa.br; jean.araujo@embrapa.br

A análise molecular do DNA total extraído de tecidos vegetais requer amostras de ótima qualidade. O principal problema do isolamento de DNA do tecido de plantas é a contaminação por compostos secundários produzidos pelos vegetais, como por exemplo, os polifenóis, polissacarídeos e ácidos orgânicos. A planta de cana-de-açúcar em particular, gasta muita energia na produção desses compostos, para posterior liberação deles em suas raízes com finalidade de proteção e/ou atração de microrganismos benéficos. Nesse trabalho usou-se raiz de cana-de-açúcar cultivada em solo com 45, 90 e 180 dias após o plantio de mudas com 60 dias de idade. Esse material foi macerado com o auxílio de nitrogênio líquido em gral e pistilo e cerca de 300 mg foram usados para extrair o DNA total, usando o tampão de extração resultante da combinação do brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) e dodecil sulfato de sódio (SDS) além da adição de substâncias como PEG 8000, -mercaptoetanol e Proteinase K. O DNA extraído foi quantificado por espectrometria usando o NanoDrop 2000© e analisado em gel de agarose 1%. A maior parte das amostras apresentaram bom rendimento ($\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) e pureza (260/280) na faixa de 1,7 a 2,0. As amostras de DNA total extraídas foram diluídas para a concentração final de $20 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ e foram submetidas a reações de PCR, verificando-se que para todas as coletas foi amplificado o fragmento próximo de 1500 pb do gene 16S rDNA. Porém, na maioria das amostras coletadas aos 180 DAP não foi possível à amplificação, bem como, para 6,25% (2 de 32) das amostras com 90 DAP. No momento o protocolo ainda esta em fase de ajustes, mas, em comparação com outras metodologias de baixo rendimento ($\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) e pureza (260/280) testadas, o mesmo possibilitou que alto percentual das amostras de DNA total, isolado de raiz com 45 e 90 DAP em solo, tivesse o fragmento de DNA alvo amplificado pela PCR convencional.

Palavras chave:

Saccharum ssp., ácidos nucleicos, tampão.