

OTIMIZAÇÃO DO PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA DE MANDIOCA PELA ADIÇÃO DE DIFERENTES ANTIOXIDANTES

Anderson Cleyton Gualberto de SOUSA^{1*}, Elisa Ferreira MOURA¹, Leonária Silva SOUZA¹, Ilenilce Castro da Silva², Izaías Nascimento LEITE¹

¹Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética Molecular, Belém, PA, Universidade Federal Rural da Amazônia, Laboratório de Genética Molecular, Belém, PA; * leonaria.souza@embrapa

A extração de DNA é considerada etapa primordial em técnicas de análises genéticas que usam o genoma em qualquer espécie, pois a obtenção de DNA íntegro e livre de impurezas é a chave do sucesso na amplificação de produtos da PCR e na interpretação dos resultados. Dessa forma, esforços devem ser envidados para se obter DNA que tenha boa quantidade e qualidade, separando-o de outros constituintes celulares, como as substâncias fenólicas. A mandioca (*Manihot esculenta*) é uma espécie nativa e das principais culturas de subsistência da Amazônia Brasileira e cujo processo de extração de DNA possui problemas de oxidação. O objetivo deste trabalho foi otimizar o protocolo de extração de DNA de mandioca pela adição de diferentes antioxidantes. Foram coletadas amostras de folíolos de plantas do BAG – Mandioca sendo mantidas sob refrigeração por 24 horas. Foi utilizado o método de extração baseado no uso do detergente CTAB - *Cationic hexadecyl trimethyl ammonium bromide*. Na ocasião da extração as amostras foram lavadas, higienizadas com hipoclorito a 10%, cortadas e colocadas em cadinhos, sendo maceradas com o auxílio de nitrogênio líquido. Em cada tubo Falcon de 15 ml foi colocado macerado até alcançar 2 ml e acrescido de 2 ml de tampão de extração com ou sem PVP (polivinilpirrolidona, 0,02g/2ml). Em cada tubo foi também colocado outro agente antioxidante, sendo eles: BSA (albumina de soro bovino, a 1%, 40 µl/2ml), PVPp (polivinilpolypirrolidona, 40 µl/2ml) e β-mercaptoetanol (40µl/2ml), totalizando sete tratamentos. Após a obtenção e secagem do pellet, foram colocadas nas amostras 50 µl de TE e incubadas por 50 minutos para a diluição do DNA. Foi avaliada a quantidade e a qualidade do DNA pela quantificação em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio utilizando-se três padrões de DNA do fago λ (50, 100 e 200 ng.µl⁻¹). Foi constatado no perfil do gel a presença de grande quantidade de RNASE em todos os tratamentos sendo obtido DNA de qualidade e com aproximadamente 100 ng.µl⁻¹ no tratamento sem PVP na solução extratora e com adição de PVPp. Portanto, deve-se acrescentar PVPp no protocolo de extração de DNA de mandioca.

Palavras-chave: Amazônia, *Manihot esculenta*, quantificação de DNA, substâncias fenólicas.

Órgão financiador: Embrapa Amazônia Oriental.