

Extração de DNA de machos e fêmeas adultos de *haemonchus contortus*

Ferreira, Antônio Daniel da Silva^{1*}; *Santos, Jessica Maria Leite dos*²; *Freitas, Edílson Pereira*³; *Vieira, Luiz da Silva*⁴; *Bevilaqua, Claudia Maria Leal*⁵; *Monteiro, Jomar Patrício*⁶

Nematoides gastrintestinais apresentam mutações que os tornam resistentes a anti-helmínticos. Após a exposição, a frequência dessas mutações aumenta na população e a resistência é passada de geração para geração. Metodologias atuais como PCR quantitativo permitem a detecção destas mutações tanto na população de parasitas como em indivíduos isolados. A geração de resultados sólidos por técnicas de biologia molecular depende essencialmente de extração de material genético em quantidade e pureza adequadas. A extração foi feita de “pools” de 20 machos e 20 fêmeas adultas de *Haemonchus contortus* coletados de ovinos. Os parasitos foram colocados em microtubos contendo esferas de zircônia/sílica e tampão de lise (SDS 0,2 %, EDTA 50 mM, Tris-HCl 50 mM, RNase 100 µg/mL, Proteinase K 0,4 mg/mL, pH 8,0). Após agitação mecânica, o lisado foi transferido para um novo tubo e incubado a 56 °C por 1 hora. SDS foi precipitado com acetato de potássio em gelo e centrifugado (14.000 x g, 15 min, 4° C) para remoção de detritos celulares. O sobrenadante foi transferido para outro microtubo contendo isopropanol absoluto (1:1, vol/vol) para precipitação do DNA e centrifugado. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi ressuspendido em 500 µL de TE (1 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 8,0). No mesmo tubo foi adicionado 500 µL de Fenol/Clorofórmio e centrifugado. A fase aquosa contendo o DNA foi transferida para um novo tubo com isopropanol como

descrito anteriormente para nova precipitação e centrifugação. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi lavado com 100 µL de etanol 70% seguido de nova centrifugação. O sobrenadante foi descartado e o DNA foi seco a 56 °C. O DNA foi ressuscitado em 25 µL de TE e armazenado a -20 °C. As amostras foram quantificadas por espectrofotometria ultra-violeta (UV) e a qualidade do DNA extraído foi determinada por eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídio e visualizado por transiluminador UV. Como resultado da extração, obtiveram-se amostras satisfatórias, pois após quantificação por espectrofotometria observou-se uma concentração de DNA igual a 388,65 ng/µL e razão de absorbância [260/280] igual a 1,85 para fêmeas, e concentração de DNA igual a 181,1 ng/µL e razão de absorbância [260/280] igual a 1,65 para machos. Além disso, as bandas observadas no gel através do transiluminador UV estavam íntegras. Com os resultados obtidos, conclui-se que as técnicas utilizadas para extração de DNA do *H. contortus* são satisfatórias para futuros estudos de biologia molecular.

Palavras-chave: Pequenos ruminantes, Ovinos, Biologia molecular, Espectrofotometria.

Suporte financeiro: Embrapa, CNPq, CAPES e FUNCAP.

¹Aluno do Curso de graduação em Medicina Veterinária das Faculdades INTA, Bolsista BICT/FUNCAP/Embrapa.

²Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Ceará (UECE).

³Mestrando do curso de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA).

⁴Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos.

⁵Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Ceará (UECE).

⁶Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientador.

*Apresentador do pôster: danielf6465@hotmail.com