

AValiação de diferentes métodos de extração de RNA total em folhas de *Vitis vinifera* infectadas por *Xanthomonas campestris*

Jéssica Barboza da Silva¹; Roberta Lane de Oliveira Silva¹; José Ribamar Costa Ferreira Neto¹; Flávia Tadeu de Araújo¹; Valesca Pandolfi¹; Andreia Cristiny Cezarino de Araújo¹; Ayug Bezerra Lemos¹; Mireli de Santana Rêgo¹; Marianne Firmino de Oliveira¹; Natoniel Franklin de Melo²; Ana Maria Benko Iseppon¹.

E-mail: jessica.barboza@live.com

⁽¹⁾Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Genética, Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, Recife, PE; ⁽²⁾Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Semiárido, Laboratório de Biotecnologia e Citogenética Vegetal, Petrolina, PE

RESUMO

A *Vitis vinifera* L. é uma trepadeira lenhosa e de porte arbustivo, sendo a principal representante da família Vitaceae. Essa espécie possui grande importância econômica no Brasil, principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, uma vez que seus frutos servem como matéria prima para fabricação de sucos, vinhos e consumo *in natura*, entre outros. Porém, a cultura da videira vem apresentando perdas em sua produtividade desencadeadas pela ação de patógenos como a bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, causadora do cancro bacteriano. Diante do exposto, este trabalho objetivou testar diferentes protocolos de extração de RNA para tecidos foliares de videira infectadas por *X. campestris* e identificar o mais eficiente para o tecido avaliado. Para isso, clones das cultivares IAC-572 e Redglobe (consideradas resistente e susceptível à *X. campestris* pv. *viticola*, respectivamente), foram cultivadas em telado sob condições controladas. Após 30 dias de cultivo as plantas foram inoculadas injetando a suspensão bacteriana de dois isolados distintos quanto à agressividade da infecção desencadeada. Após 24 e 48 horas de inoculação, as amostras foram coletadas e armazenadas em freezer -80° C. A extração de RNA total foi realizada utilizando aproximadamente 100 mg de tecido foliar a partir de seis métodos distintos: CTAB-Acetato de Amônio (1), CTAB-LiCl (2), Trizol (3), Trizol-Fenol (4), SV Total RNA Isolation System - Promega (5) e RNeasy Plant Mini kit - Qiagen (6). Para todos os protocolos testados foram realizadas pequenas modificações, exceto para o protocolo 3 que seguiu as recomendações do fabricante. A integridade das amostras foi verificada em gel de agarose (1,5 %). Observou-se que os métodos 1, 2 e 5 foram os mais eficientes, sendo possível visualizar as duas bandas de RNA ribossomal (28S e 18S). No entanto, no método 2 foi verificado um rastro no gel, sugerindo uma possível degradação das amostras provavelmente ocasionada pela ação de RNases durante o processo de extração. Nos demais protocolos não foram visualizadas bandas, indicando que nenhum RNA foi extraído. Esse resultado pode estar associado ao fato do tecido foliar de videira apresentar altos níveis de compostos fenólicos, conferindo uma maior dificuldade para obtenção de amostras de RNA de boa qualidade. Portanto, conclui-se que a seleção de um método de extração de RNA adequado é um passo fundamental para garantir sucesso em estudos de expressão gênica via PCR em tempo real.

APOIO

CNPq; CAPES; Facepe.