



IV Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos

Recursos genéticos no Brasil:
a base para o desenvolvimento sustentável

Centro de Convenções
Expo Unimed | Curitiba-PR

08 a 11
de novembro de 2016



AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO DNAPOR PCR EM TEMPO REAL EM EMBRIÕES DE SOJA ENVELHECIDA ARTIFICIALMENTE

Renata Miranda Lopes¹; Paula Andréia. S. de Vasconcelos Carvalho³; Ana Cristina Miranda Brasileiro²; Mario Alfredo de Passos Saraiva²; Marcos Aparecido Gimenes^{2*}

¹Departamento de Botânica, Universidade de Brasília - UnB.

²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³Instituto de Biociências – Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

*marcos.gimenes@embrapa.br.

A maioria dos danos ao DNA associados ao envelhecimento de sementes é causado pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas durante a dessecação e estocagem prolongada. As EROs induzem quebras a fita simples do DNA pelo ataque direto às unidades desoxirribose causando fragmentação do DNA. Na amplificação por qPCR a integridade do DNA influencia nos valores de CT (*cycle threshold*), sendo que amostras mais degradadas demoram mais para atingir o CT. O Objetivo deste trabalho foi avaliar a degradação do DNA de embriões de soja envelhecida por qPCR. As amostras foram envelhecidas artificialmente por sete tempos (0,6,12,24,48,72 e 96 horas) a 42°C com 100% de UR e como controle positivo de degradação foi utilizado DNA aquecido a 95°C. Para a amplificação foram selecionados três *amplicons* de um mesmo gene. O resultado da reação foi expresso em valor de CT. O fragmento de 86pb apresentou pequena variação, os CTs ficaram próximos entre 22,4 a 23,8 min para as amostras envelhecidas e 24,1 a 25,5 min para o DNA aquecido a 95°C. Para o fragmento de 193pb houve variação maior, os CTs variaram entre 21,6 a 23,4 min para os tempos 0h a 24h e entre 24,0 a 25,9 min para os de 48 a 96h. Entre as amostras aquecidas os CTs variaram entre 23,6 a 26,2 min. O fragmento de maior comprimento, o de 491pb, diferenciou melhor as amostras, os CTs variaram de 20,2 a 28,4 min. E para o DNA aquecido entre 23,5 a 34,8 min sendo que a amostra controle se destacou das demais. A análise de agrupamento formou três grupos, o primeiro com apenas a amostra 12h, o segundo com as amostras 48 e 72h e o terceiro com as amostras 0, 6, 24 e 96h, mas esta última em um subgrupo à parte. Algumas amostras de 96h apresentaram CTs mais baixos próximos dos encontrados para os tempos de 0h à 24h, por isso o agrupamento próximo a estas amostras. O adiantamento do CT na amostra 96h pode ser devido à quantificação por fluorímetro, pois este não é hábil para quantificação de DNA degradado, assim a quantidade de DNA da amostra 96h pode ter sido maior do que a das demais, por isso o tempo para atingir o CT foi menor. Foi possível a identificação da degradação do DNA via qPCR, porém os fragmentos maiores mostraram maior diferença entre as amostras. Isso mostra que apesar de *primers* menores serem mais indicados para análises em qPCR, quando se trata de avaliar a integridade do DNA, fragmentos maiores são mais apropriados.

Palavras-chave: Dano DNA; qPCR; Semente.

Agradecimentos: À Fundação de amparo a pesquisa do Distrito Federal – FAP e à coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior – Capes.