

## Validação de protocolo de extração de DNA sem uso de nitrogênio líquido

Taís Araújo Santos<sup>1</sup>; Ana Cláudia Oliveira Barbosa<sup>2</sup>; Amanda Gabriely<sup>3</sup>, Jan Krueze<sup>4</sup>; Marie-Line Iskra Caruana<sup>5</sup>; Claudia Fortes Ferreira<sup>6</sup>

<sup>1,3</sup>Estudante de Biologia Bacharelado da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, tai.19@hotmail.com;

<sup>2</sup>Mestranda em Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Santa Cruz, aina-cob2@hotmail.com; <sup>4</sup>CIP, Lima, Peru, j.kreuze@cgiar.org, <sup>5</sup>CIRAD, UMR BGPI, F-34398 Montpellier, França and BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro, Montpellier, França, marie-line.caruana@cirad.fr, <sup>6</sup>Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, claudia.ferreira@embrapa.br

Com o avanço das técnicas de Biologia molecular, surge a necessidade de se aprimorar protocolos de extração de DNA para que sejam mais rápidos e baratos, possibilitando a inclusão de novas metodologias que tendem a beneficiar seus usuários. Nos protocolos de rotina, o uso do nitrogênio líquido é indispensável para o rompimento da parede celular e retirada dos ácidos nucleicos do interior do núcleo das células durante o processo de maceração. No entanto, sabe-se que o custo do nitrogênio líquido é bastante elevado. As furadeiras de bancada fazem a mesma função do nitrogênio líquido e são extremamente baratas, duráveis e fáceis de serem utilizadas e o seu uso em relação ao nitrogênio e permite uma economia de R\$20.000-R\$30.000,00/laboratório/ano a depender do número de amostras de rotina. Portanto, o objetivo deste trabalho foi validar protocolo de extração de DNA com o uso da furadeira de bancada na extração de DNA das principais culturas da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Após a coleta do material vegetal, foram realizadas as extrações de DNA das seguintes culturas: banana, abacaxi, citros, mamão, maracujá e mandioca. Para cada espécie foram utilizados três genótipos, com três repetições cada. A quantificação para verificar a quantidade e a qualidade do DNA foi feita em gel de agarose 1% por meio de eletroforese. Em seguida foram realizadas as amplificações com dez marcadores moleculares, sendo: cinco marcadores SSR (*Simple Sequence Repeats*) e cinco ISSR (*Inter-simple Sequence Repeats*), com o intuito de validar o protocolo. A extração de ácidos nucleicos com uso da furadeira de bancada foi idealizada no CIRAD – Baillarguet em Montpellier – França e CIP-Lima Peru. O método de extração de DNA com auxílio da furadeira de bancada foi eficiente na obtenção de DNA de qualidade em comparação com o método tradicional que faz uso do nitrogênio líquido e sua validação foi confirmada por meio das amplificações via marcadores ISSR e SSR.

**Significado e impacto do trabalho:** A possibilidade de aliar rapidez à robustez e baixo custo aos protocolos de rotina, contribuem para o dinamismo e contenção de gastos em laboratórios, que, ao final de um ano, podem trazer muitos benefícios principalmente em se tratando de épocas de recursos escassos. Esta nova metodologia irá contribuir imensamente para a redução de custos nos laboratórios de Biologia Molecular para trabalhos de rotina com marcadores de DNA.