

# OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE MACERAÇÃO VISANDO A EXTRAÇÃO DE DNA EM LARGA ESCALA

Barichello, D.<sup>1</sup>; Consoli L.<sup>2</sup>; Pereira, J. F.<sup>3</sup>

A extração de DNA de plantas e fungos é um procedimento importante em diversos projetos de pesquisa na Embrapa Trigo. Normalmente, os protocolos de extração são compostos de diferentes etapas sendo que a etapa de maceração é considerada a mais trabalhosa e demorada. Assim, o objetivo deste trabalho foi otimizar o uso da plataforma de maceração “*minibeadbeater*” para a extração de DNA de plantas e fungos, visando a implementação de protocolos de extração de DNA em larga escala. Foram testados diferentes quantidades e tamanhos de esferas metálicas, diferentes modelos de tubos tipo *Eppendorf*, variações no tempo de maceração, ausência ou presença de tampão de extração durante a maceração e diferentes quantidades de tecido foliar ou micélio fúngico. O primeiro teste revelou que o uso de esferas de 6,2 e 3,2 mm resultou na quebra de diferentes modelos de tubos, o que não ocorreu com as esferas de 2,3 mm. Quatro esferas de 2,3 mm foram utilizadas para triturar, por 30 ou 60 segundos, 15 discos de 6 mm de tecido foliar de trigo congelado com nitrogênio líquido ou na presença de tampão de extração. O rendimento da maceração por 30 segundos, na presença de nitrogênio líquido, foi similar ao da maceração por 60 segundos (19 e 20,5 mg de DNA, respectivamente), enquanto o rendimento da extração na presença de tampão foi menor (6,25 mg de DNA). Testes utilizando 5, 10, 15 e 20 discos de 6 mm de tecido foliar e 125 ou 225 mg de micélio fúngico com 2, 3 e 4 esferas de 2,3 mm revelaram que o aumento da quantidade do tecido não leva a um aumento linear do rendimento da extração. Baseado nos resultados dos experimentos, aconselha-se o uso de 15 discos (125 mg) de tecido foliar e 225 mg de micélio fúngico com 3 esferas de 2,3 mm na presença de nitrogênio líquido. Uma vez que a plataforma “*minibeadbeater*” pode macerar até 48 amostras em tubos ou 96 amostras em placa, seu uso permite a extração de DNA de 72 amostras/dia/pessoa em tubos, com capacidade de expansão para 192 amostras/dia/pessoa, apresentando um rendimento de extração de DNA suficiente para a realização de 100-200 PCRs/amostra.

---

<sup>1</sup> Acadêmica do curso de Ciências Biológicas - B - UPF. Bolsista da EMBRAPA . E-mail: dili.barichello@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Trigo, orientador. E-mail: consoli@cnpt.embrapa.br.

<sup>3</sup> Analista da Embrapa Trigo. E-mail: jorge@cnpt.embrapa.br.