

## **Extração de Dna de um *pool* de nematoides (*Deladenus siricidicola*) para desenvolvimento de bibliotecas genômicas enriquecidas com microssatélites**

**Daiane Rigoni Kestring**

Analista da Embrapa Florestas, drigoni@cnpf.embrapa.br

**Susete do Rocio Chiarello Penteado**

Pesquisadora da Embrapa Florestas

O desenvolvimento de marcadores microssatélites através de bibliotecas genômicas enriquecidas tem sido utilizado para diversas espécies e requer uma quantidade de DNA mínima e de boa qualidade. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método para obtenção de DNA a partir de um *pool* de nematoides para uso no desenvolvimento de microssatélites. Para isto, um protocolo conhecido foi otimizado no Laboratório de Análise Genética Molecular da Unicamp, visando simplificar e agilizar o procedimento de construção de bibliotecas genômicas enriquecidas. O nematoide *Deladenus siricidicola* é um organismo pequeno e, conseqüentemente, possui pouco tecido disponível para extração de DNA. Devido a este fato, foi utilizado um *pool* para conseguir a quantidade de DNA mínima necessária para utilizar a metodologia. O *pool* foi centrifugado à 10.000 rpm e, após a centrifugação, procederam-se as etapas de extração de acordo com o protocolo. A verificação da concentração e integridade do DNA extraído foi realizada utilizando-se gel de agarose 1% corado com brometo de etídio. Foi verificada uma banda fraca de DNA, quantificada como menor que 10 ng uL<sup>-1</sup>, porém não foram visualizados rastros de contaminação no gel. Objetivando conseguir uma quantidade maior de DNA e visando reproduzir o protocolo, foi testado no LGM da Embrapa Florestas a utilização de *pools* com quatro indivíduos iguais. A verificação em gel de agarose permitiu uma quantificação de 15 ng uL<sup>-1</sup> de DNA íntegro e de boa qualidade. A partir destes resultados, pode-se afirmar que o protocolo de extração mostrou-se eficiente, pois o DNA extraído das amostras apresentou-se íntegro e sem contaminantes. Porém, o rendimento de DNA ainda foi baixo, provavelmente por ser dependente da quantidade inicial de nematoides, a qual não é padronizada nem conhecida em todas as amostras. De qualquer forma, o protocolo de extração desenvolvido na Unicamp e reproduzido na Embrapa Florestas permitiu obter DNA para o desenvolvimento de microssatélites através de bibliotecas genômicas enriquecidas, bem como foi passível de amplificação através de PCR.

**Palavras-chave:** Otimização de protocolo; marcadores moleculares.