



IV Encontro de Iniciação Científica e Pós-graduação da Embrapa Clima Temperado

CIÊNCIA E INOVAÇÃO PARA 2050: QUAL O FUTURO QUE QUEREMOS?

MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE RNA EM PESSEGUEIRO PARA UTILIZAÇÃO EM ESTUDOS DE EXPRESSÃO GÊNICA

Miriam Valli Büttow¹; Maria do Carmo Bassols Raseira²; Natércia Lobato Pinheiro Lima³;

Sandro Bonow²

¹Bióloga, doutora, bolsista de pós-doutorado do CNPq, Embrapa Clima Temperado. E-mail: miriamvb@gmail.com;

²Eng. Agrônomo, Doutor, pesquisador da Embrapa Clima Temperado;

³Química, analista da Embrapa Clima Temperado.

O período de dormência é uma característica genótipo-específica que limita a adaptabilidade climática de culturas de clima temperado, como, por exemplo, o pêsego. Um melhor conhecimento dos genes envolvidos neste processo pode fornecer ferramentas para a avaliação inicial da necessidade de horas de frio para superação da dormência em cultivares e seleções de programas de melhoramento. O objetivo deste trabalho foi testar diferentes métodos de extração de RNA, para posterior utilização em estudos de expressão gênica em cultivares e seleções da Embrapa Clima Temperado. Os genótipos selecionados para este estudo são contrastantes quanto às características: (1) Necessidade em frio hibernal: alta (Planalto, Dellanona, Chiripá, Maria Bianca e Flordaking); baixa (Libra, Bonão, Kampay, Aurora) e intermediária (Esmeralda e Chimarrita); e (2) Calor no início da floração: não tolerante (Granada) e tolerante (BR1 e Maciel). Folhas de três plantas de cada genótipo foram coletadas, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C até o momento da extração. Foram realizados testes de extração de RNA pelos métodos de CTAB adaptado para pessegueiro e pelos métodos que utilizamos reagentes comerciais TRIzol Reagent e PureLink Plant RNA Reagent, ambos da Invitrogen. A integridade e quantidade do RNA extraído foram mensuradas por gel de agarose 1% corado com gel red e por fluorimetria (Qubit, Invitrogen). Os resultados preliminares indicam que o protocolo que produziu RNA de melhor integridade e quantidade foi o CTAB (453 a 536 $\mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$). Estes protocolos serão testados para os demais tecidos de pessegueiro: caule, frutos, gemas e flores. Após o estabelecimento do protocolo de extração ideal para cada tipo de tecido, será feita a síntese de cDNA e análises de RT-qPCR utilizando genes candidatos para tolerância ao calor em pessegueiro.

Agradecimentos: Ao CNPq pela bolsa de pós-doutorado para a primeira autora, e ao Gilberto Kuhn pelo auxílio na coleta de material.