

## COMPARAÇÃO DE CINCO MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE DNA A PARTIR DE FOLHAS DE *Phyllanthus niruri*.

Fatianne da Cruz D. de Lima<sup>1</sup>, Liliane Alcântara Araújo<sup>2</sup>, Camila Campêlo de Sousa<sup>3</sup>, Jailson de Araújo Santos<sup>4</sup>, Erlane de Sousa Araújo<sup>5</sup>, Sulimary Oliveira Gomes<sup>6</sup>, João Paulo Gomes Viana<sup>7</sup>, Paulo Sarmanho da Costa Lima<sup>8</sup>, Sérgio Emílio dos Santos Valente<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC-UFPI 2011-2012, Departamento de Biologia, fatiannelima@hotmail.com.

<sup>2</sup> Aluna colaboradora, Departamento de Biologia CCN-UFPI, lilibio07@hotmail.com br

<sup>3</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento – Universidade Federal do Piauí – Teresina – Piauí, camilacampelobr@hotmail.com

<sup>4</sup> Aluno colaborador, Departamento de Biologia CCN-UFPI, jailson.play@hotmail.com

<sup>5</sup> Aluna colaboradora, Departamento de Biologia CCN-UFPI, erlannysouza@hotmail.com

<sup>6</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Universidade Federal do Piauí – Teresina – Piauí, sgomes\_pi@hotmail.com.

<sup>7</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento – Universidade Federal do Piauí – Teresina – Piauí, jpgv2004@hotmail.com.

<sup>8</sup> Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA – Teresina – Piauí.

<sup>9</sup> Prof. Dr. do Departamento de Biologia – Universidade Federal do Piauí – Universidade Federal do Piauí – Teresina – Piauí, svalente2@yahoo.com.

**Resumo:** Realizou-se a avaliação de protocolos de extração de DNA genômico vegetal em *Phyllanthus niruri* para identificar o protocolo que proporciona um resultado mais adequado em relação à quantidade e à qualidade do DNA obtido. Comparou-se cinco protocolos: Romano (1998), Doyle & Doyle (1987), Grattapaglia et al. (1995) e Clark et al. (1989), todos baseados no método CTAB e o protocolo descrito por Dellaporta (1983), baseado no método SDS. Para uma melhor comparação entre os protocolos analisados foram feitas padronizações nas quantidades dos reagentes e de tecido foliar. Através do presente estudo pode-se observar que o protocolo que gerou um DNA mais adequado para futuros estudos moleculares foi o descrito por Dellaporta (1983). Verificou-se um alto nível de contaminação nos demais protocolos; isso pode ser devido aos constituintes químicos da planta tais como compostos fenólicos.

**Palavras-chave:** DNA, extração, *Phyllanthus niruri*, protocolos

### Introdução

*Phyllanthus niruri* também conhecida como quebra-pedra, é uma planta de fácil cultivo, não sendo muito exigente quanto ao tipo de solo e que pode ser facilmente encontrada no Brasil. Os interesses terapêuticos do *Phyllanthus niruri* L. provêm principalmente de suas propriedades diuréticas para o combate de cálculos renais, isso porque ele evita a formação de

cálculos renais e relaxa o sistema urinário, o que ajuda a expeli-los (AGUIAR, 2002). É indicada ainda como analgésico e na prevenção de diversas enfermidades como disenteria, diabetes, beribéri, artrite e derrame (AGUIAR, 2002). O objetivo do presente trabalho foi comparar cinco protocolos de extração de DNA e avaliar o protocolo mais eficiente em *Phyllanthus niruri* L.

### **Material e Método**

A extração de DNA foi realizada no Laboratório de Micologia, localizado no Departamento de Biologia no da Universidade Federal do Piauí. A quantificação das amostras foi conduzida no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Meio-Norte. Avaliou-se cinco protocolos diferentes: Romano (1998), Doyle & Doyle (1987), Grattapaglia et al. (1995) e Clark et al. (1989), todos baseados no método CTAB (*Cationic Hexadecyl Trimethyl ammonium Bromide*) e o protocolo descrito por Dellaporta (1983), baseado no método SDS. Foram feitas modificações relativas à quantidade de tecido foliar a qual foi padronizado em 40 mg por amostra a qual foi submetida à extração, seguida das devidas alterações proporcionais dos reagentes.

### **Resultados e Discussão**

Os resultados obtidos em relação à qualidade e quantidade do DNA variaram muito de acordo com o protocolo utilizado. O protocolo que apresentou os melhores resultados foi o descrito por Dellaporta (1983) (Figura 01), baseado no método SDS, e que proporcionou visualmente um material pouco contaminado.

Os demais protocolos testados não resultaram em um material de boa qualidade, essa contaminação pode ter sido ocasionada pela rápida oxidação do material após a maceração identificada por uma coloração escurecida do material. Isso pode ter ocorrido devido à composição química dessa planta que possui altos índices de compostos fenólicos, os quais causam uma rápida oxidação do material.

Esses resultados indicam que a quantidade de DNA obtido a partir de 40 mg de tecido foliar de *Phyllanthus niruri* é suficiente para estudos envolvendo análise molecular.

QD1 QD2 QD5 QD4 QD3

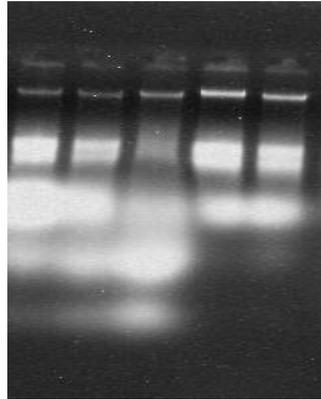


Figura 01. Fragmentos amplificados de DNA de *Phyllanthus niruri* obtidos seguindo-se a metodologia de Dellaporta (1983).

### Conclusão

Com base nos resultados obtidos e nas condições em que se realizou o presente estudo, conclui-se que o método descrito por Dellaporta (1983) forneceu um DNA com qualidade e quantidade adequada para futuros estudos moleculares.

### Referências

- AGUIAR, R. **Quebra-pedra**. Ciênon-line, 2002. Disponível em: <<http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/quebra-pedra/quebra-pedra-4.php>>. Acesso em 29 dez. 2011, 15:30:10.
- CLARK, B. C.; MORAN, L. B.; APPELS, R. **DNA analyses in wheat breeding**. Genome, v. 32, p 334-339, 1989.
- DELLAPORTA SL, WOOD J, HICKS JB. **A plant DNA minipreparation: version II**. Plant Molecular Biology Reporter, p.19-21, 1983.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L.; HORTORIUM, L. H. B. **Isolation of plant DNA from fresh tissue**. Focus, v. 12, n. 1, p. 13-15, 1987.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMPRAPA-CENARGEN, 220p, 1995. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 20).
- ROMANO, E.; BRASILEIRO, A. C. M. **Extração de DNA de plantas**. Biotecnologia, v. 2, n. 9, p.40-43,1999.