

VEGETAL

ANÁLISE DE QUATRO PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM ACHELLA ULIGINOSA.

GISELE HOLANDA DE SÁ¹; MARCONES FERREIRA COSTA²; MARIA FERNANDA DA COSTA GOMES³; MARILHA VIEIRA DE BRITO⁴; CAMILA CAMPÊLO DE SOUSA⁵; SULIMARY OLIVEIRA GOMES⁶; JOÃO PAULO GOMES VIANA⁷; PAULO SARMANHO DA COSTA LIMA⁸; SÉRGIO EMÍLIO DOS SANTOS VALENTE⁹;
1,2,3,4,5,6,7,9. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ, TERESINA, PI, BRASIL; 8. EMBRAPA MEIO NORTE, TERESINA, PI, BRASIL;
marconesbiologo@hotmail.com

Resumo:

Resumo: Realizou-se a avaliação de quatro protocolos de extração de DNA descritos por Ferreira e Gratapaglia (1995), Romano e Brasileiro (1998), Khanuja et al. (1999), baseados no detergente CTAB, e o protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983), baseado no método de SDS, com modificações referentes à quantidade de tecido foliar, proporcionais à quantidade de reagentes. No presente trabalho objetivou-se a identificação do protocolo que proporcione DNA em quantidade e qualidade adequados a futuros experimentos envolvendo técnicas moleculares para a espécie *Achella uliginosa*, conhecida popularmente como agrião. Observou-se que os protocolos que se mostraram mais eficientes foram os descritos por Romano e Brasileiro (1998) e Dellaporta et al. (1983).

ANÁLISE DE QUATRO PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM *Acmella uliginosa*.

Resumo: Realizou-se a avaliação de quatro protocolos de extração de DNA descritos por Ferreira e Grataplaglia (1995), Romano e Brasileiro (1998), Khanuja et al. (1999), baseados no detergente CTAB, e o protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983), baseado no método de SDS, com modificações referentes à quantidade de tecido foliar, proporcionais à quantidade de reagentes. No presente trabalho objetivou-se a identificação do protocolo que proporcione DNA em quantidade e qualidade adequados a futuros experimentos envolvendo técnicas moleculares para a espécie *Acmella uliginosa*, conhecida popularmente como agrião. Observou-se que os protocolos que se mostraram mais eficientes foram os descritos por Romano e Brasileiro (1998) e Dellaporta et al. (1983).

Palavras-chave: agrião, protocolos de extração, técnicas moleculares

Introdução

A espécie *Acmella uliginosa*, conhecida popularmente como Agrião – Bravo, pertence a família Asteraceae (Joly, 1997). É originária da América Tropical e ocorre naturalmente em lugares úmidos e sombreados. A planta é utilizada na culinária Paraense (Lorenzi, 2002) e possui propriedades medicinais, funcionando como anestésico local, por conter um princípio ativo denominado Espilantol, sendo usada na medicina popular contra dor de dente.

O trabalho em questão tem por objetivo analisar quatro diferentes protocolos de extração de DNA em *Acmella uliginosa* e determinar aquele que apresente maior eficiência (menos oneroso e trabalhoso) na obtenção de amostras de DNA de qualidade e em quantidade suficiente para serem utilizadas em técnicas moleculares.

Material e Métodos

A coleta do tecido foliar do Agrião – Bravo foi realizada no Departamento de Fitotecnia no Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal do Piauí (UFPI). A extração de DNA vegetal ocorreu no laboratório de análise de solos (LASO), localizado no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da UFPI. A quantificação das amostras da extração foi efetuada no Laboratório de Biologia Molecular da EMBRAPA Meio – Norte / Teresina-PI.

Os protocolos avaliados foram os descritos por Ferreira e Grattapaglia (1995), Romano e Brasileiro (1998), Khanuja et al. (1999), todos baseados na utilização do detergente CTAB, e o protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983), baseado no método de SDS. Foram feitas modificações relativas à quantidade de tecido foliar, onde as mesmas foram padronizadas para a quantidade de 40 mg por amostra. Na realização de cada protocolo foram feitas oito repetições.

A seguir, efetuou-se a quantificação do DNA, realizada por meio de eletroforese em agarose a 0,8%. Os padrões de bandas foram visualizados utilizando luz ultravioleta (UV) e o marcador de DNA (fago λ) com concentração conhecida de 100 ng/ μ L. Esses padrões foram fotografados com equipamento MiniBISPro®.

Resultados e Discussão

Foram detectadas diferenças nos quatro protocolos testados. Sugere-se a utilização dos protocolos descritos por Romano e Brasileiro (1998) - (Figura1); Dellaporta et al. (1983) - (Figura 2) e o método de Khanuja et al. (1999) - (Figura 3).

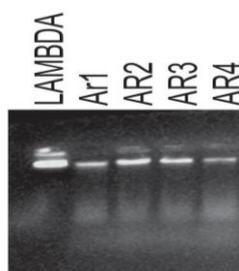


Figura 1: Perfil eletroforético de DNA de *Acmella uliginosa* extraído por meio do protocolo descrito por Romano e Brasileiro (1998).

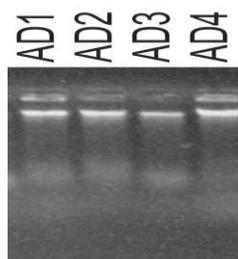


Figura 2: Perfil eletroforético de DNA de *Acmella uliginosa* extraído por meio do protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983).

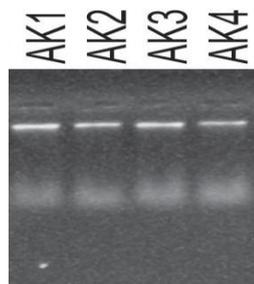


Figura 3: Perfil eletroforético de DNA de *Acmella uliginosa* extraído por meio do protocolo descrito por Khanuja et al. (1999).

Conclusão

Baseando-se nos resultados fornecidos pelo presente trabalho, concluiu-se que o protocolo que possui maior eficiência na extração de DNA foi o descrito por Romano e Brasileiro (1998) com boa quantidade e qualidade de DNA.

Como alternativa, os procedimentos descritos por Dellaporta et al. (1983) e Khanuja et al. (1999) também forneceram amostras de DNA que podem ser utilizadas em futuras técnicas moleculares.

Referências Bibliográficas

DELLAPORTA, S.L., WOOD, J.; HICKS, J.B. A plant DNA minipreparation: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, p. 19-21, 1983.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA – CERNAGEN, 220P, 1995. (EMBRAPA – CERNAGEN. Documentos, 20).

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 4 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1977.

KHANUJA, S.P.S. et. al. Rapid isolation of DNA from Dry and Fresh Samples of Plants Producing Large Amounts of Secondary Metabolites and Essential Oils. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 17,p.1-7, 1999.

ROMANO, E.; BRASILEIRO, A.C.M. Extração de DNA de Plantas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 5, n. 29 p. 40-43, 1998.