

Análise da extração de DNA de populações de milho crioulo da região Norte do RS utilizando-se um kit comercial

Bianca Oliveira Machado¹, Ariel Rizzardo¹, Rosilene Rodrigues Kaizer Perin¹,
Noryam Bervian Bispo^{1*}
*Orientador

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) –
Campus Sertão. Sertão, RS.

O milho (*Zea mays L.*) destaca-se entre as maiores culturas agrícolas mundiais, sendo uma espécie altamente variável genotipicamente. A disponibilidade de informações sobre o potencial genético de raças crioulas ou *landraces*, possibilita o conhecimento de novas características que podem contribuir para o melhoramento da espécie. Para a caracterização de germoplasma, atualmente, várias técnicas moleculares estão disponíveis. A análise genética baseada em marcadores moleculares, por exemplo, tem o DNA (Ácido Desoxirribonucléico) como produto fundamental utilizado. A PCR (Reação da Polimerase em Cadeia) a partir de quantidades ínfimas da sequência de DNA gera cópias idênticas em quantidades suficientes para permitir sua detecção. Com isso, a eficiência dessas análises é essencialmente dependente da qualidade e da quantidade do DNA extraído. Por isso, o objetivo desse trabalho é avaliar a extração e quantificação do DNA de variedades crioulas de milho, como fatores importantes para uma posterior reação de PCR eficiente. Dessa forma, foram avaliadas 17 populações de milho crioulo coletadas na região de Sertão, no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, *Campus Sertão*. O DNA foi macerado e extraído das folhas com o Kit DNeasy® Plant Mini Kit, da marca QIAGEN através de um protocolo próprio da marca. A quantificação foi realizada através de espectrofotometria com leituras de absorbância de 260 e 280 nm, no sentido de estimar a concentração de DNA ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) e a concentração de proteína ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Os resultados obtidos para concentração de DNA variaram de 0,0236 a 2,5586 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, demonstrando que alguns valores ficaram abaixo de 1,6 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ indicando a presença de quantidade de proteína superior à desejada. Para uma análise eficiente, as preparações de DNA devem produzir amostras puras o suficiente para não inibir os tratamentos enzimáticos ou causar interferências nos padrões de migração em gel de eletroforese. Verifica-se, também, que foi possível calcular uma concentração de proteína mínima de 22 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ nas amostras, essa quantidade é suficiente para realizar, aproximadamente, mais de 1100 PCRs. Vários fatores podem influenciar na quantidade e qualidade da amostra, incluindo desde os procedimentos para a coleta e armazenamento do tecido vegetal até o processo de extração de DNA e de armazenamento do DNA extraído. O protocolo desenvolvido, portanto, permitiu a obtenção de DNA de boa qualidade para a maioria das amostras possibilitando, posteriormente a amplificação em PCR. A partir disso, pode-se explorar a variabilidade desses materiais, buscando alternativas aos cultivos empregados normalmente pelos agricultores da região.

Palavras-chave: *Zea mays*. Landraces. Extração de DNA. Espectrofotômetro.