

Otimização de protocolo para extração do DNA de endosperma de sementes de *Araucaria angustifolia*

Daiane Rigoni Kestring

Farmacêutica Bioquímica, Analista da *Embrapa Florestas*, drigoni@cnpf.embrapa.br

Carlos Eduardo Sicoli Seoane

Biólogo, Pesquisador da *Embrapa Florestas*

Uma das mais importantes etapas nas análises genéticas quando utilizam-se fragmentos de DNA, é o isolamento e a purificação do DNA em quantidades suficientes e de boa qualidade. Para isso, o protocolo de extração utilizado deve atender certos requisitos, tais como: ser capaz de romper paredes e membranas celulares, bloquear a ação de DNases, separar os ácidos nucléicos das proteínas e polissacarídeos e ainda proteger o DNA da ação de compostos fenólicos, evitando assim a sua oxidação. Portanto, a utilização de um protocolo de extração que seja capaz de atender estes requisitos faz-se necessário, quando se deseja obter um DNA de alta qualidade. O método mais utilizado para diferentes espécies é o baseado no uso do detergente CTAB. A literatura descreve diferentes métodos para extração de DNA de acículas terminais (brotos) de araucária, porém para endosperma pouca informação está disponível. Diante disto, o objetivo deste trabalho é otimizar o método padrão CTAB de extração de DNA a partir do endosperma de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. As análises foram realizadas no laboratório de Genética Molecular da *Embrapa Florestas*. Foram utilizadas três sementes de araucária congeladas à -20 °C. Partiu-se do protocolo descrito por Mazza e Bittencourt (2000) para brotos de araucária, mas o DNA obtido, visualizado sob forma de banda em gel de agarose, apresentou contaminação com proteínas e aparecimento de RNA. Realizou-se, então, duas etapas adicionais de extração com solvente orgânico e adição de RNase no procedimento. Após esta extração, observou-se ainda a contaminação do DNA e aparecimento de RNA. Numa nova análise, foi realizada uma primeira extração com solvente orgânico, seguida de adição de maior quantidade de RNase e, após incubação à 34 °C, seguiram-se mais duas extrações com solvente. Este protocolo permitiu a obtenção de um DNA íntegro, sem contaminantes e em quantidades suficientes para as aplicações pretendidas. A partir destes resultados, estabeleceu-se um protocolo de extração do DNA de endopserma de sementes de *A. angustifolia*, que está disponível para utilização no laboratório.

Palavras-chave: DNA; protocolo de extração; araucária.

