

PADRONIZAÇÃO DE METODOLOGIA DE EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS DE JUNDIÁ

João Francisco Pereira Rodrigues¹, Maria Alice Nunes², Lucas Vogel³, Marcelo Grassi⁴, Carlos José Raupp Ramos⁵, Silvia Romão⁶, Luisa Helena Cazarolli⁷

Resumo: O Jundiá é um peixe nativo com grande potencial para a piscicultura. Dentre as espécies reconhecidas como jundiá estão *Rhamdia quelen*, *R. voulezi* e *R. braunnerii*, todas presentes no Rio Iguaçu e sua área de abrangência, sendo como espécie introduzida ou endêmica, ocorrendo grandes dificuldades de identificação entre as espécies. Outra questão importante no processo de domesticação e introdução destes animais na aquicultura está relacionada ao acompanhamento da manutenção da variabilidade genética de animais utilizados no melhoramento evitando a homogeneização genética e seus efeitos negativos para a produção animal. Diferentes metodologias utilizando marcadores moleculares de DNA, através de técnicas de amplificação e hibridação, são utilizados para diferenciar e acompanhar a variabilidade genética entre gêneros, espécies ou indivíduos. A primeira etapa para o desenvolvimento destas técnicas é garantir uma metodologia adequada para a extração do DNA em quantidade e com grau de qualidade suficiente para a realização das análises de marcadores moleculares. O objetivo deste trabalho foi padronizar as metodologias de extração, quantificação e determinação de pureza e integridade de DNA de tecidos de músculo e fígado de *R. quelen*. Para tanto, foram preparados homogenatos de fígado e músculo em tampão de lise (Tris-HCl 50mM, EDTA 50mM, NaCl 100mM, SDS 1% pH 8,0, SDS 10%, proteinase K 200µg/mL) e incubado por 2h a 50°C (etapa de digestão). Após a incubação foi realizada a extração dos homogenatos com NaCl 5M e etanol absoluto por 60 minutos a -20°C, centrifugado, descartado o sobrenadante para obtenção do pellet de DNA. No músculo, o pellet foi ressuspenso em tampão Tris 10mM pH 8,0, EDTA 1mM (etapa de extração). No fígado, foi realizada nova digestão em tampão de lise, incubado por 1h a 50°C e após repetido o procedimento de extração, com a ressuspensão do pellet de DNA em tampão Tris 10mM pH 8,0, EDTA 1mM. As amostras de DNA foram quantificadas em espectrofotômetro a 260/280nm para avaliação da concentração e pureza das amostras. Para avaliar a integridade das

¹ Acadêmico do curso de Engenharia de Aquicultura, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul. Bolsista de extensão (PROEXT/UFFS). joaofranciscoo@live.com

² Acadêmico do curso de Engenharia de Aquicultura, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul. Voluntário. mariaalicenunes_16@hotmail.com

³ Acadêmico do curso de Engenharia de Aquicultura, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul. lucas.vogel.sul@gmail.com

⁴ Técnico de laboratório, Químico. Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul. marcelo.grassi@uffs.edu.br

⁵ Professor Mestre, Médico Veterinário, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul. carlos.ramos@uffs.edu.br

⁶ Professor Doutor, Biólogo, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul. silvia.romao@uffs.edu.br

⁷ Professor Doutor, Farmacêutico bioquímico, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul. luisacazarolli@uffs.edu.br

amostras, foi realizada eletroforese horizontal em gel de agarose 0,7% com padrão de peso molecular (0,1 μ g/ μ L) e tampão Tris-borato 89mM, EDTA 2mM pH 7,6 e revelado com o uso de corante Blue Green Loading Dye I em câmara escura/transiluminador modelo L-PIX (Loccus Biotecnologia). As amostras apresentaram concentrações de DNA entre 18 a 377 μ g/ μ L, com pureza entre 1,02 e 1,8, demonstrando a efetividade da técnica de digestão e extração realizada. Nas imagens do gel de eletroforese foi visualizada a presença das bandas do padrão de peso molecular e de DNA intacto nas amostras, demonstrando que os processos de digestão e extração não interferiram com a integridade das amostras. Os resultados permitem concluir que as metodologias propostas de extração, quantificação e avaliação de qualidade e integridade de DNA de amostras de jundiá foram efetivas e podem ser utilizadas na rotina laboratorial.

Palavras-chave: marcador molecular; *Rhamdia* sp; Melhoramento genético; DNA.