



Ciências Agrárias

AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS ALCALINAS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS DE SÊMEN DE OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS

Mariana da Silva Ribeiro, Aylton Bartholazzi Junior, Aline Pacheco,
Celia Raquel Quirino Dévanny Weller Ferreira Menassa

A biologia molecular, por meio da manipulação do DNA, tem grande contribuição para estudos relacionados ao melhoramento genético animal. A extração de DNA é uma importante etapa no processo de identificação genotípica. Vários são os métodos que podem ser empregados para a extração do DNA, que pode ser obtido através de amostras de tecidos e fluidos corporais. Amostras perecíveis, como o sêmen, devem ser armazenadas adequadamente até o processo de extração. Este trabalho teve o objetivo de avaliar a viabilidade de amostras de sêmen armazenadas a 4°C para extração de DNA utilizando três técnicas alcalinas. Para as extrações de DNA foram utilizadas amostras de sêmen de três ovinos da raça Santa Inês. Em cada macho foi utilizada a coleta de sêmen com vagina artificial. Logo após a coleta foi realizada uma extração de DNA e posteriormente as amostras de sêmen foram refrigeradas a 4°C por 6, 24, 30 e 48 horas. Em cada período de tempo foi realizada uma extração de DNA. Foi realizada extração alcalina rápida com sêmen total e com sêmen centrifugado, e extração alcalina com sêmen tratado com citrato de sódio. Para as extrações foram utilizadas solução de lise (192,5 mM de NaOH) e solução neutralizante (200 mM de HCL e 100 mM de Tris HCL). Após a extração, as amostras passaram por uma análise qualitativa e quantitativa, realizada pelo espectrofotômetro (NanoDrop 2000c). Para comprovar a eficiência da extração, as amostras foram submetidas à amplificação do DNA pela técnica da PCR, através da amplificação do locus IRNA63. Verificou-se diferença entre protocolos, sendo que o protocolo rápido com sêmen centrifugado apresentou a maior concentração, seguido pelo protocolo alcalino rápido com sêmen total e o protocolo alcalino com citrato de sódio foi o que obteve menor concentração. Tanto na pureza protéica quanto na pureza de sais os protocolos alcalinos rápidos apresentaram médias semelhantes quando comparadas à do protocolo alcalino com citrato de sódio, que foi maior na concentração protéica e menor na de sais, resultando em amostras mais puras. Não houve diferença na média das concentrações quando comparados os tempos de armazenamento. Conclui-se que as amostras de sêmen conservadas a 4°C por até 48 horas podem ser utilizadas para extração de DNA, que por serem práticas, rápidas e de baixo custo, as técnicas alcalinas são ideais para uso rotineiro em laboratório.

Palavras-chave: *Extração, Ovino, Sêmen.*

Instituição de fomento: UENF