



UFRRJ



PROPPG
Pro-Reitoria de Pesquisa
e Inovação
UFRRJ



RAIC 21/22
IX Reunião Anual de
Iniciação Científica

RAIDTEC 21/22
III Reunião Anual de Iniciação em
Desenvolvimento Tecnológico
e Inovação

Nossas Cientistas:

*mulheres e ciência no Brasil,
ontem e hoje*



1. Carolina Maria de Jesus
2. Bertha Lutz
3. Maria Conceição
4. Lella Gonzales
5. Mayana Zatz
6. Sonia Guimarães

APLICAÇÃO DE PROTOCOLO DE BAIXO CUSTO PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE ADUBOS ORGÂNICOS VISANDO O AUMENTO DA ACESSIBILIDADE A TÉCNICAS BASEADAS EM ÁCIDOS NUCLEICOS PARA AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE MICROBIANA

IX Reunião Anual de Iniciação Científica da UFRRJ (RAIC 2021/2022) e III Reunião Anual de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (RAIDTec 2021/2022) - UFRRJ, 0ª edição, de 15/05/2023 a 19/05/2023
ISBN dos Anais: 978-65-5465-041-0

GONÇALVES; João Vitor da Silva ¹, XAVIER; Julia Ferreira ², BERTHOLOTO; Danielli Monsores ³, SANT'ANNA; Gustavo Souza Lima ⁴, COELHO; Irene da Silva ⁵

RESUMO

Análises da diversidade microbiana em solos agrícolas e adubos orgânicos são realizadas para inferir indicadores biológicos da fertilidade e a sua qualidade sanitária. Desse modo, técnicas baseadas em ácidos nucleicos tem permitido uma análise mais sensível da estrutura e função da diversidade microbiana dos adubos orgânicos e dos solos. Sendo assim, a extração de DNA diretamente de amostras ambientais é uma etapa essencial que deve garantir a obtenção de DNA em quantidade o suficiente e livre de contaminantes que podem comprometer as análises moleculares posteriores. Logo, o presente projeto objetivou comparar um protocolo de extração de DNA de custo mais acessível com um kit de extração comercial. A extração de DNA total foi realizada a partir de amostras de seis amostras de cama de aviário. O kit comercial de extração de DNA utilizado foi o PowerSoil® DNA Isolation (Qiagen). O protocolo de extração de DNA foi baseado no método de lise celular com tampão de extração contendo os detergentes CTAB (1%) e SDS (5%) e esferas de vidro com agitação no vórtex por 5 min e posteriormente incubação em banho-maria a 65°C por 1 hora. Em seguida, foi utilizada uma etapa com PEG8000 (30%) e NaCl (1,6 M) com incubação por duas horas, e desproteíntização com clorofórmio:álcool isoamílico (24:1) seguido da precipitação do DNA com isopropanol com incubação por 12 horas. A quantidade (ng/μL) e a qualidade (relação entre a absorbância 260nm/280 nm) do DNA foram obtidos através do espectrofotômetro Nano Drop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific). O software utilizado para análises estatísticas foi o PAST versão 4.10. Como os dados são não-paramétricos, foram submetidos a transformação Box-Cox e, em seguida, ao teste t com nível de significância de 0,05. A partir do protocolo e do kit comercial foram obtidos em média, respectivamente, 296 e 241 ng/uL de DNA total, não apresentando diferença significativa entre as concentrações de DNA.

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, joaovitoralva@hotmail.com

² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, julia.f.xavier@outlook.com

³ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, danibertholoto@gmail.com

⁴ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, gsouzalimas@gmail.com

⁵ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, irenecs@yahoo.com

Porém, houve diferença na relação de absorbância 260/280 do protocolo em relação ao kit, que apresentaram, respectivamente, 1,9 e 1,8 de média. Apesar da diferença estatística da relação 260/280 apresentada entre o protocolo e o kit, ambos estão no intervalo de 1,8 a 2,0, o que indica que as amostras de DNA apresentam boa qualidade. Valores abaixo indicam contaminação com proteínas e valores acima, presença de RNA ou polissacarídeos. Uma vez que foi possível a extração de DNA das camas de aviário pelo protocolo de baixo custo com quantidade e qualidade comparáveis ao kit comercial, este protocolo pode representar uma alternativa mais acessível aos kits comerciais para extração de DNA de diferentes amostras ambientais aumentando a acessibilidade a técnicas baseadas em ácidos nucleicos para avaliação da diversidade microbiana.

PALAVRAS-CHAVE: técnicas moleculares, cama de aviário, biotecnologia

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, joavitordalva@hotmail.com

² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, julia.f.xavier@outlook.com

³ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, danibertholoto@gmail.com

⁴ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, gsouzalimas@gmail.com

⁵ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, irenecs@yahoo.com