

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 Silva¹, XAVIER; Julia Ferreira², BERTHOLOTO; Danielli Monsorens³, SANT'ANNA; Gustavo Souza Lima⁴, COELHO; Irene da Silva⁵

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 desproteinização 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. 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, joaovitoralva@hotmail.com

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

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

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

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