



VALIDAÇÃO DE UM PROTOCOLO ÁGIL E EFICAZ PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE FOLHAS MADURAS DE ACESSOS DE MILHOS CRIoulos

ANA CAROLINA ATAIDE SILVEIRA; JEFFERSON JOE MOREIRA ALVES; LUAN SOUZA DE PAULA GOMES; MATHEUS HENRIQUE TEIXEIRA; DEMERSON ARRUDA SANGLARD

Introdução: A extração de DNA é um dos principais procedimentos para a utilização de técnicas moleculares. Possui enorme importância nos protocolos de amplificação via Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction - PCR). Esta, por sua vez, permite estimar a dissimilaridade genética entre acessos de uma população, selecionar genes específicos, realizar estudos de alelismo, construir mapas genéticos, obter clonagens posicionais, dentre muitos outros procedimentos úteis ao melhoramento genético. **Objetivos:** Validar um protocolo de extração de DNA com rapidez e elevada pureza, a partir de folhas maduras de 44 acessos de milhos crioulos prospectados no Norte de Minas Gerais. (*Zea mays* L.). **Material e métodos:** Testou-se procedimentos modificados baseados no protocolo de base CTAB (Brometo de Cetil Trimetilamonio ou Cetyl trimethylammonium bromid). Nesse protocolo foram utilizadas diferentes concentrações de β -mercaptoetanol no tampão de extração (0,0; 0,2; 10; 15; 25; e 50 μ L de β -mercaptoetanol/mL), considerando o seguinte tampão de extração: Tris-HCl 100 mM em pH 8; EDTA 20 mM; NaCl 1,4 mM; CTAB 2% e; PVP 1%). Os procedimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Minas Gerais (*campus* Montes Claros), fomentados pelo Banco do Nordeste (Fundo de Desenvolvimento Econômico, Científico, Tecnológico e de Inovação - FUNDECI). **Resultados:** O protocolo foi eficiente no isolamento de DNA livre de polissacarídeos e polifenóis, com rendimento do DNA de alto peso molecular e concentrações acima de 120 ng/ μ L, utilizando-se valores superiores a 1% de β -mercaptoetanol no tampão de extração. Outras modificações importantes se ativeram aos passos da maceração, substituindo o uso do nitrogênio líquido (trituração das amostras em cadinho e pistilo), por uma ação direta do aparelho disruptor/homogeneizador de amostras biológicas, nos microtubos acrescidos do tampão. Além disso, adicionou-se duas rodadas para desproteinização (clorofórmio álcool isomílico 24:1), sendo os dois passos de pósios resfriados das amostras realizados apenas em ultrafreezer (-75°C) durante 10 min (cerca de 48 h poupadas). **Conclusão:** O protocolo de base CTAB para extração de DNA, inicialmente proposto para folhas de plantas leguminosas (largas), também foi eficaz em folhas maduras de acessos de milhos crioulos (gramíneas), levando em conta adaptações que permitiram pureza e celeridade ao processo.

Palavras-chave: Análise molecular, Celeridade, Extração de dna, Melhoramento vegetal, *Zea mays* l.