QUALIDADE DO DNA DE FOLHAS DE BATATA EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO

João Augusto Paixão Peres, Mikael de Paula Brandão, Roberto Henrique de Lima Ribeiro, Mayra Alejandra Rincón Rueda, Tiago de Souza Marçal, Lucimara Cruz de Souza

Universidade Federal de Lavras, Trevo Rotatório Professor Edmir Sá Santos, s/n
Caixa Postal 3037 - 37203-202 – Lavras – MG, Brasil, joao.peres1@estudante.ufla.br, mikael.brandao1@estudante.ufla.br, roberto.ribeiro3@estudante.ufla.br, mayra.rueda2@estudante.ufla.br, tiago.marcal@ufla.br, lucimaracruz@ufla.br

Resumo

A batata é uma das principais culturas alimentares do mundo e apresenta grande importância em programas de melhoramento genético. Nesse contexto, análises moleculares são ferramentas importantes para a caracterização genética e a seleção de genótipos superiores, tornando a obtenção de DNA de qualidade fundamental. Este trabalho objetivou avaliar a qualidade do DNA extraído de folhas de batata em diferentes estádios de desenvolvimento: jovens, intermediárias e senescentes. O DNA genômico foi obtido pelo método CTAB, com modificações, e avaliado quanto à concentração, pureza e integridade. A qualidade funcional das amostras foi verificada por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) utilizando o marcador ISSR UBC 810. As folhas jovens apresentaram uma concentração média de 2187,8 ng/µL de DNA, razões A_{260}/A_{280} de 2,09 e A_{260}/A_{230} de 2,47, além de bandas intensas e bem definidas. As folhas intermediárias e senescentes apresentaram redução progressiva nas concentrações e pureza do material. Apesar das diferenças entre os estádios, todas as amostras apresentaram amplificação satisfatória por PCR. Os resultados demonstram que folhas jovens constituem a fonte mais eficiente para obtenção de DNA de alta qualidade para aplicações moleculares em batata.

Palavras Chaves *Solanum tuberosum*. Extração de DNA. Melhoramento Genético. Senescência foliar.

Área do conhecimento: Ciências Biológicas - Genética

Introdução

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma espécie originária da região Andina da América do Sul e pertencente à família Solanaceae. Em nível global, trata-se da terceira cultura mais importante para a alimentação humana, ficando atrás apenas do arroz e do trigo (Islam. *et al.,* 2022). Sua alta capacidade de adaptação a diversas condições edafoclimáticas reforça seu papel estratégico na promoção da segurança alimentar em diferentes regiões do mundo (Devaux *et al*., 2021). Além disso, a batata apresenta expressiva variabilidade genética, o que a torna uma espécie de grande interesse para estudos em programas de melhoramento genético (The Potato Genome Sequencing Consortium, 2011).

Os avanços tecnológicos na área de biologia molecular têm possibilitado, por exemplo, a aplicação de diferentes marcadores moleculares na caracterização genética de espécies cultivadas, como é o caso da batata (Alhasnawi; Alasadiy; Doni, 2024; Silva *et al*., 2014). Essas técnicas permitem a avaliação da diversidade genética e subsidiam etapas de seleção em Programas de Melhoramento Genético de Plantas (Crossa *et al*., 2021) O sucesso de avaliações moleculares depende diretamente da obtenção de DNA em quantidade adequada e com elevado grau de pureza, uma vez que a presença de contaminantes pode interferir em etapas subsequentes, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) (Doyle; Doyle, 1987; Schrader *et al.,* 2012; Varshney *et al.,* 2021).

Para estudos em plantas, as folhas são frequentemente utilizadas como fonte de DNA genômico devido à facilidade de coleta e à eficiência no rendimento de extração (Doyle; Doyle, 1987; Karakas *et al.,* 2023). Vale destacar que, ao longo do desenvolvimento das plantas de batata, ocorrem alterações

significativas na composição metabólica das folhas, incluindo variações nas concentrações de proteínas, pigmentos e compostos fenólicos. Essas mudanças podem influenciar as características do tecido vegetal e, consequentemente, a qualidade do DNA extraído (Martinez *et al.,* 2013; Rodríguez Pérez *et al*., 2018).

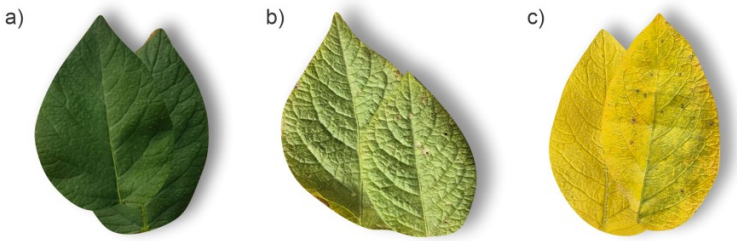
A presença de compostos fenólicos e polissacarídeos constitui um dos principais desafios na extração de DNA vegetal (Sahu *et al.* 2012). Os compostos fenólicos podem sofrer oxidação durante a lise celular, formando complexos com os ácidos nucleicos, enquanto os polissacarídeos podem permanecer associados ao DNA durante o processo de purificação (Inglis *et al.* 2018). Como consequência, esses contaminantes podem intensificar a degradação das amostras e diminuir a vida útil do material (De-Lellis *et al*. 2021, Doyle; Doyle, 1990; Kasem *et al.* 2020;). Nesse contexto, o estágio de desenvolvimento foliar configura-se como um fator relevante para a qualidade do DNA obtido, uma vez que diferentes idades foliares podem apresentar características fisiológicas e bioquímicas distintas, capazes de influenciar o rendimento, a pureza e a integridade do material genético extraído (Jones; Nagalingum; Handley, 2023; Mitchell; McAssey; Hodel, 2023).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo comparar a qualidade do DNA extraído de folhas de batata em diferentes estágios de desenvolvimento foliar, avaliando-se a concentração, a pureza e a integridade do material genético.

Metodologia

Foram coletadas folhas de plantas de batata cultivadas em casa de vegetação entre maio e agosto de 2026. Foram selecionadas amostras em diferentes estágios de desenvolvimento vegetativo: jovem (J), intermediário (I) e senescente (S) (Figura 1), utilizando nitrogênio líquido durante a coleta. Posteriormente, as amostras foliares foram armazenadas a −20 °C no Laboratório de Genética Molecular da Universidade Federal de Lavras (LABGEN-UFLA) e, posteriormente, maceradas em nitrogênio líquido para a extração de DNA.

Figura 1 - Folhas de batatas coletadas entre os diferentes estágios: jovens (a), intermediárias (b) e senescentes (c).



Fonte: Do autor, 2026.

A extração de DNA foi realizada utilizando o método CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio) descrito por Doyle & Doyle (1987), com modificações propostas pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Inicialmente, o macerado foi homogeneizado em tampão de extração contendo: 2% CTAB, 100 mmol/L de Tris-HCl (pH 8,0), 1,4 M de NaCl, 20 mM de EDTA (pH 8,0), 1% de PVP e 0,2% de β-mercaptoetanol. A separação de fases foi realizada pela adição de solução Clorofórmio:álcool isoamílico (CIA, 24:1). O DNA foi precipitado pela adição de 1 volume de álcool isopropílico gelado e 1/3 do volume de acetato de amônio (7,5 M). Após a etapa de precipitação, o *pellet* foi submetido a três lavagens sucessivas com etanol 70% e, posteriormente, deixado à temperatura ambiente até a secagem total do etanol. O precipitado foi ressuspendido em 54 µL de H_2O ultrapura com adição de RNAse (40 µg/mL). A etapa de *overnight* do protocolo original foi omitida.

A concentração e pureza do material extraído foram avaliadas por meio de espectrofotometria em aparelho Nanodrop, com base nas leituras de absorbância (A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230}). A avaliação da integridade do DNA extraído foi realizada em eletroforese, em gel de agarose a 0,8%.

Para os testes de amplificação via reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizado o *primer Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) UBC 810, desenvolvido pela Universidade da Colúmbia Britânica (UBC). Cada reação continha volume final de 20 µL, sendo: tampão 1X (10 mM Tris-HCl (pH 8,5) e 50 mM de KCl), MgCl2 (2,5 mM), dNTP (1 mM), *primer* (0,2 mM), 1 unidade de Taq DNA polimerase e 50

ng de DNA genômico como molde. A amplificação foi realizada sob as seguintes condições de termociclagem: um ciclo inicial de desnaturação a 94ºC por 5 minutos, seguido por 35 ciclos de 94ºC por 45 segundos, 52ºC por 45 segundos, 72ºC por 1 minuto e 30 segundos e um ciclo de extensão final de 72ºC por 7 minutos.

Os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese, em gel de agarose a 2%, em tampão de corrida TBE 1× (0,089 M de Tris Base; 0,089 M de ácido bórico e 0,002 M de EDTA), com tensão de 110 V, por 1 hora e 30 minutos. Os géis foram corados com *GelRed* e fotografados sob luz ultravioleta, utilizando fotodocumentador digital (L-PIX, Loccus Biotecnologia).

Resultados

Os resultados de quantificação e absorbância do DNA obtido nos diferentes estágios de desenvolvimento foliar estão apresentados na Tabela 1. As folhas jovens apresentaram concentrações de DNA entre 1588,0 e 2884,0 ng/µL, com valores de A_{260}/A_{280} entre 2,07 e 2,10 e de A_{260}/A_{230} entre 2,43 e 2,49.

Nas folhas em estágio intermediário, as concentrações variaram de 32.8 a 133.1 ng/µL, enquanto as razões A_{260}/A_{280} variaram de 1,97 a 2,04 e A_{260}/A_{230} de 2,52 a 2,90. Para as folhas senescentes, foram observadas concentrações entre 4,6 e 8,8 ng/µL, com valores de A_{260}/A_{280} entre 1,63 e 2,48 e de A_{260}/A_{230} entre −9,82 e 6,54.

De modo geral, os maiores valores médios de concentração de DNA foram registrados para folhas jovens, seguidos pelas folhas intermediárias e senescentes. As maiores amplitudes de variação nos índices A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230} foram observadas nas folhas senescentes.

Tabela 1 - Concentração e leituras de absorbância de amostras de DNA extraído de folhas jovens (J), intermediárias (I) e senescentes (S) de batata.

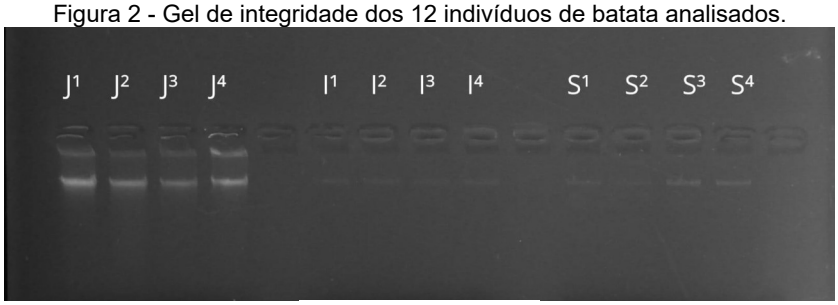
Amostra	[ ] ng/µL	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{230}
J¹	2884,0	2,09	2,49
J²	2533,0	2,10	2,46
J³	1588,0	2,07	2,43
J⁴	1746,2	2,08	2,48
Média	**2187,8**	**2,085**	**2,47**
I¹	133,1	1,97	2,52
I²	32,8	1,99	2,66
I³	47,2	2,04	2,85
I⁴	45,7	2,03	2,90
Média	**64,7**	**2,01**	**2,73**
S¹	6,9	2,48	6,54
S²	4,6	2,39	-2,89
S³	6,1	1,63	-9,82
S⁴	8,8	1,90	2,79
Média	**6,6**	**2,10**	**-0,85**

Fonte: Do autor, 2026.

As análises de integridade revelaram bandas bem definidas e de alta intensidade para as folhas jovens (J). Para folhas intermediárias (I) e senescentes (S), as bandas apresentaram-se tênues, no

entanto, mantiveram-se visíveis e com padrão de integridade preservado (Figura 2). Não foram observados sinais de contaminação e nem arraste para todas as amostras analisadas.

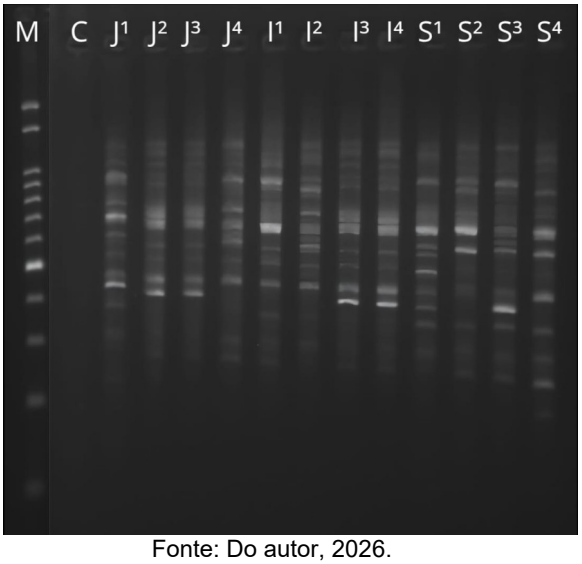
Figura 2 - Gel de integridade dos 12 indivíduos de batata analisados.



Fonte: Do autor, 2026.

Foi observada amplificação satisfatória em PCR com o *primer* ISSR UBC 810 para todas as amostras analisadas (Figura 3).

Figura 3 - Perfil de amplificação em gel de agarose do *primer* ISSR UBC 810 dos 12 indivíduos de batata analisados. C = No template Control, M = Marcador Ladder: 100 pb.



Fonte: Do autor, 2026.

Discussão

A qualidade e o rendimento do DNA extraído de folhas de batata variaram em função do estágio de desenvolvimento foliar, evidenciando a influência das características fisiológicas e bioquímicas do tecido sobre a eficiência da extração (Rocha *et al*., 2018). As folhas jovens apresentaram os melhores resultados quanto à concentração e à pureza do DNA, indicando ausência de interferentes. Esse comportamento é consistente com estudos que demonstram maior rendimento e qualidade do DNA obtido de tecidos foliares jovens (Russo *et al*., 2022), enquanto folhas maduras e senescentes podem apresentar maior concentração de compostos fenólicos e outros metabólitos que dificultam a purificação do material genético (Barra *et al.,* 2012).

Nas folhas intermediárias e senescentes, observou-se redução da concentração de DNA e maior variabilidade nos índices de pureza. A redução da razão A_{260}/A_{230} nessas amostras pode estar associada à presença de compostos coextraídos, incluindo polissacarídeos, polifenóis e outros metabólitos secundários, os quais podem interferir na purificação do DNA e nas análises espectrofotométricas (Rasheed *et al.* 2024) . Esses compostos constituem importantes contaminantes em protocolos de

extração de DNA vegetal e podem apresentar maior dificuldade de remoção em tecidos sob senescência (Russo *et al.,* 2022).

Os resultados obtidos na análise de integridade corroboram, de modo geral, o padrão observado na espectrofotometria. As amostras provenientes de folhas jovens apresentaram bandas mais intensas e definidas, indicando maior obtenção de DNA íntegro. Em contraste, as menores intensidades observadas nas folhas intermediárias e senescentes são compatíveis com a menor concentração de DNA determinada por espectrofotometria.

Apesar das diferenças quantitativas e de pureza entre os estágios foliares, todas as amostras apresentaram amplificação por PCR, demonstrando que o DNA obtido permaneceu funcionalmente adequado para a aplicação molecular avaliada. Esse resultado é relevante, uma vez que compostos fenólicos e polissacarídeos presentes em extratos vegetais podem inibir a atividade de DNA polimerases e comprometer a eficiência de reações de PCR.

Conclusão

Os resultados indicam que o estágio de desenvolvimento foliar constitui um fator relevante para a extração de DNA de batata, sendo as folhas jovens a fonte mais favorável entre os tecidos avaliados. Embora folhas intermediárias e senescentes também tenham produzido DNA funcional para PCR, sua menor concentração e maior variação nos parâmetros de pureza indicam maior ocorrência de compostos interferentes e maior necessidade de controle das etapas de extração e purificação. Dessa forma, a seleção do tecido vegetal com idade adequada é essencial para a obtenção de DNA de alta qualidade e confiável para análises moleculares subsequentes.

Referências bibliográficas

AHMADU, T.; ABDULLAHI, A.; AHMAD, K. The role of crop protection in sustainable potato (Solanum tuberosum L.) production to alleviate global starvation problem: an overview. In: YILDIZ, M.; OZGEN, Y. (ed.). **Solanum tuberosum: a promising crop for starvation problem**. London: IntechOpen, 2021.

BARRA, MACARENA; SALAZAR, ERIKA ; BELTRAN, MARIA e SAGREDO, BORIS . Método de extração de DNA simples e robusto para a análise em larga escala de genótipos com alto teor de polifenóis, como variedades crioulas de Solanum tuberosum e Zea mays . **Cienc. Inv. Agr.** . 2012, vol.39, n.3, pp.593-601. ISSN 0718-1620.

DE-LELLIS, L. Assessment of DNA integrity and degradation mechanisms in long-term stored plant samples. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 39, n. 2, p. 245–257, 2021.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11–15, 1987.

INGLIS, P. W.; MATA, L. R.; VIEIRA, R. An optimized protocol for high-quality DNA extraction from recalcitrant plant species rich in polyphenols and polysaccharides. **Plant Methods**, v. 14, art. 81, 2018.

ISLAM, M. M.; NAZNIN, S.; NAZNIN, A.; UDDIN, M. N.; AMIN, M. N.; RAHMAN, M. M.; TIPU, M. M. H.; ALSUHAIBANI, A. M.; GABER, A.; AHMED, S. Dry matter, starch content, reducing sugar, color and crispiness are key parameters of potatoes required for chip processing. **Horticulturae**, v. 8, n. 5, art. 362, 2022.

JONES, M. M.; NAGALINGUM, N. S.; HANDLEY, V. M. Testing protocols to optimize DNA extraction from tough leaf tissue: a case study in Encephalartos. **Applications in Plant Sciences**, v. 11, n. 3, e11525, 2023.

KARAKAS, E.; FERRANTE, P.; SCHAFLEITNER, R.; GIULIANO, G.; FERNIE, A. R.; ALSEEKH, S. Plant sample collection and shipment for multi-omic analyses and phytosanitary evaluation. **Current Protocols**, v. 3, n. 12, e952, 2023.

MITCHELL, N.; MCASSEY, E. V.; HODEL, R. G. J. Emerging methods in botanical DNA/RNA extraction. **Applications in Plant Sciences**, v. 11, n. 3, e11530, 2023.

OLIVEIRA, T. J. M. de. Fenotipagem de alto rendimento e avaliação pós-colheita de clones de batata (Solanum tuberosum L**.)**. 2025. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 202.

RASHEED, H., DENG, B., AHMAD, D., & BAO, J. (2024). Genetic Diversity and Genome-Wide Association Study of Total Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Properties in Potatoes (Solanum tuberosum L.). **International journal of molecular sciences,** 25(23), 12795.

ROCHA, V. D. da; ZÓRTEA, K. É. M.; CARDOSO, E. dos S.; BISPO, R. B.; TIAGO, A. V.; ROSSI, A. A. B. Efeito da idade da folha na qualidade do DNA extraído de Piper aduncum L. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v. 15, n. 2, p. 218–222, 2018.

RUSSO, A., MAYJONADE, B., FREI, D., POTENTE, G., KELLENBERGER, R. T., FRACHON, L., COPETTI, D.,STUDER,B., FREY,J. E., GROSSNIKLAUS, U., & SCHLUTER, P. M. (2022). Low-Input High-Molecular-Weight DNA Extraction for Long-Read Sequencing From Plants of Diverse Families. **Frontiers in plant science**, 13, 883897.

SAHU, S. K.; THANGARAJ, M.; KATHIRESAN, K. DNA extraction protocol for plants with high levels of secondary metabolites and polysaccharides. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 3, p. 2873 –2881, 2012.

SCHRADER, C.; SCHIELKE, A.; ELLERBROEK, L.; JOHNE, R. PCR inhibitors: occurrence, properties and removal. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, n. 5, p. 1014–1026, 2012.

SHAMSHAD, M.; SHARMA, A. The usage of genomic selection strategy in plant breeding. In: **Next generation plant breeding**. London: IntechOpen, 2018.

VARMA, A.; PADH, H.; SHRIVASTAVA, N. Plant genomic DNA isolation: an art or a science. **Biotechnology Journal**, v. 2, n. 3, p. 386–392, 2007.

VILPOUX, O. F. Roots and tubers processing for cooking purposes: ready-to-eat, vacuum and frozen products, French fries, and chips. In: CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. (ed.). **Traditional starch food products: application and processing**. Cambridge: Academic Press, 2025. p. 75–110.

ZHANG, Y.; CAI, P.; CHENG, G.; ZHANG, Y. A brief review of phenolic compounds identified from plants: their extraction, analysis, and biological activity. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 25, 2022.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da CAPES, CNPq, FAPEMIG, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da UFLA (PPGGM-UFLA), Grupo de Pesquisa em Genética Molecular de Plantas da UFLA (GMOL-UFLA) e Programa de Melhoramento Genético de Batata da UFLA (PROBATATA-UFLA).