Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia
ISSN: 1982-1263

Metodologias utilizadas na extração de ácido desoxirribonucleico

Bárbara de Cássia Ribeiro Vieira[1], Marcela Brite Alfaiate[2], Ana Paula Guedes Oliveira[1], Aparecida de Fátima Madella-Oliveira[3], Célia Raquel Quirino[4*], Mayk Henrique Souza[5], Lucina de Souza Lorenzoni[6], Pedro Pierro Mendonça[3]

[1]Alunas de Pós-graduação Stricto Sensu em Medicina Veterinária da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES.
[2]Aluna do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre, ES.
[3]Professores do Instituto Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre, ES.
[4]Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal do Centro Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ.
[5]Tecnólogo em Cafeicultura do Instituto Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre, ES.
[6]Aluna de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciências Florestais da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES.
[*]Autor para correspondência, E-mail para correspondência: crq@uenf.br

RESUMO. Objetivou-se fazer uma revisão de literatura abordando as metodologias utilizadas no processo de extração de ácido desoxirribonucleico. Os ácidos nucleicos podem ser extraídos de diversos materiais biológicos. Diferentes metodologias são utilizadas para a extração, as quais devem garantir a qualidade das amostras conforme os objetivos das pesquisas e espécie estudada, como: proteinase K, fenol/clorofórmio, bulbos pilosos, cartões para sangue, dentre outros kits comerciais e protocolos adaptados.

Palavras-chave: Ácido nucleico, genética, protocol.

Metodologies used in the extraction of deoxyribonucleic acid

ABSTRACT. The objective was to do a review the literature regarding the methodologies used in the extraction process of deoxyribonucleic acid. The nucleic acids may be extracted from various organic materials. Different methodologies are used for extraction, which should ensure the quality of the samples according to the objectives of the research and studied species, such as proteinase K, phenol / chloroform, hair bulbs, cards for blood, among other commercial kits and protocols adapted.

Keywords: nucleic acid, genetics, protocol.

Introdução

O objetivo da extração de ácidos nucleicos é retirá-los do núcleo das células e purificá-los. O tipo e a forma de análise da amostra determinarão qual método químico de extração será utilizado. O ácido desoxirribonucleico (DNA) pode ser extraído de amostras de dente, osso, saliva, sangue, esfregaços bucais, fios de cabelo, sêmen, tecido, urina, entre outros materiais biológicos (Vieiraet al., 2010). Os diferentes protocolos para a obtenção de DNA surgem pela necessidade de adequação aos objetivos do trabalho e devem considerar as características e a origem do tecido ao qual se propõe realizar extração (Waldschimidtet al., 1997).

Conforme Bueno (2004) há diversas técnicas para extração de DNA, as quais utilizam diferentes metodologias e espécimes biológicos, baseadas no uso de proteinase K, seguidas, ou não, por fenol e clorofórmio, além de diversos *kits* comerciais. Apesar das diferenças entre os protocolos, todos seguem as seguintes etapas: lise das células, desproteinização e concentração do DNA. Um método de extração eficiente que forneça DNA genômico livre de inibidores, íntegro e em quantidade suficiente é crucial para garantir a sensibilidade das técnicas moleculares (Santoset al., 2009).

Anteriormente ao advento dos *kits*, a extração de DNA consistia em três etapas: lise das células,

purificação e precipitação. As metodologias mais atuais empregam os mesmos princípios básicos, entretanto, podem apresentar diferenças, principalmente nas etapas de purificação e precipitação (Clementset al., 2008). Os *kits* comerciais para extração do DNA, segundo González et al. (2004), são amplamente empregados na rotina laboratorial, principalmente por sua rapidez, praticidade e alta afinidade por íons metálicos que são inibidores da Taq DNA Polimerase. Alguns exemplos são: o kit de extração por coluna NeoScience® e o EZ-DNA® (Cardozo et al., 2009), o Chelex 100® e InstaGene Matrix®, ambos disponibilizados pela BioRab (Barae et al., 2004). Objetivou-se fazer uma revisão de literatura abordando as metodologias utilizadas no processo de extração de ácido desoxirribonucleico.

Metodologias para extração de ácido desoxirribonucleico

A metodologia tradicional com proteinase K e fenol/clorofórmio é amplamente utilizada e concede bons resultados. Porém, esta metodologia apresenta desvantagens pela sua toxicidade ao ambiente e perigo ao ser manuseada (Barea et tal., 2004). Como método alternativo, o fenol e clorofórmio podem ser substituídos pela solução salina (Medranoet al., 1990).

O método de extração de DNA mais tradicional utiliza sangue periférico permitindo que a amostra obtenha DNA de alta qualidade, ou seja, de alto peso molecular. Essa metodologia é utilizada em pesquisas que propõem conservação de material *ex situ*, pois o DNA pode ser armazenado por longo tempo, contrariamente aos protocolos de métodos não invasivos (Sambrooket al., 1989). Este tipo de extração é um método invasivo que requer mais tempo, utilizando de substâncias tóxicas e voláteis, como o fenol, exigindo cuidados de manipulação, além de altos custos com reagentes (Almeida, 2008).

Métodos amostrais não invasivos têm sido amplamente incentivados. Pesquisas nas áreas biológicas estão usufruindo desse tipo de amostragem em estudos de populações das mais variadas espécies animais, bem como em investigações com seres humanos (Caudronet al., 2007; Weber et al., 2009). Essa metodologia não invasiva tem-se mostrado atrativa por ser de tempo e custo reduzidos, de fácil coleta e estocagem de amostras (Vigilant, 1999),

Uma alternativa para obter DNA de mamíferos em menor tempo e com mais segurança, seria extraí-lo dos bulbos pilosos. Esta metodologia possui vantagens de não oferecer risco à sanidade do animal e apresentar método simples de coleta e estocagem, bem como baixo custo, não exigindo reagentes ou equipamentos para conservação das amostras (Valderramaet al., 1999). Porém, apresenta um menor número de células e excesso de moléculas contaminantes, sendo necessário utilizar meios específicos para otimizar a extração de boa qualidade (Salman & Laureano, 2006).

A utilização de blocos de parafina tem aumentado conforme os avanços tecnológicos e metodológicos (Bareaet al., 2004). Estes podem ser fontes de estudos para instabilidades em regiões de microssatélites, a epidemiologia molecular, de detecção ou diferenciação de microrganismos patogênicos e caráter retrospectivo (Ribeiro-Silva & Garcia, 2008). Esta metodologia pode apresentar vantagens, como: alta qualidade morfológica, em grande quantidade e é de fácil acesso permitindo a identificação de lesões precursoras e em último caso, é recurso disponível para análise genética. Entretanto, podem influenciar no insucesso da amplificação onde o grau de fragmentação do DNA, o efeito do fixador e temperatura são exemplos de fatores que podem influenciar na amplificação do DNA (Bareaet al., 2004).

Outros métodos mais rápidos e eficazes podem ser utilizados, como por exemplo, os cartões FTATM (*Flinders Technology Associates, Whatman*). O material é adsorvido ao papel e os ácidos nucléicos são liberados e imobilizados nas fibras da matriz do cartão. Os cartões contêm desnaturantes de proteínas e outros químicos responsáveis por proteger as amostras do ataque de nucleases, da oxidação e dos raios ultravioleta (Oliveiraet al., 2007). Segundo Beckett et al.(2008) as amostras armazenadas no cartão FTA apresentam DNA de alta qualidade. Em contrapartida, os cartões não são efetivos em todos os experimentos, já sendo relatado que os mesmos não protegeram o DNA

da degradação, devido a umidade e ao tipo de amostra coletada (Borisenko et al., 2007).

Metodologias utilizadas em ruminantes

Em seu estudo para detectar um vírus por meio de órgãos fetais e sêmen bovino, Takiuchiet al. (2003) utilizaram diferentes métodos de extração de DNA, como fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1), sílica/tiocianato de guanidina, associação dos métodos fenol / clorofórmio / álcool isoamílico e sílica / tiocianato de guanidina e DNAzol. Também utilizando sêmen bovino para extrair DNA de *Leptospira interrogans*, Magajevki & Gírio (2008) usaram como metodologias de extração a lise enzimática por proteinase K, extração por terra diatomácea ou método rápido alternativo, lise por fervura-fenol e com DNAzol.

Pesquisando acerca da febre catarral maligna em bovino, Mendonça et al. (2008) utilizaram amostras de tecidos congelados, os quais foram submetidos ao método padrão de extração proteinase K/fenol/clorofórmio e precipitação com etanol, conforme Sambrook e Russel (2001). Para determinar a proporção macho x fêmea de embriões bovinos, Rheigantet al. (2004) descreveram como método de extração o tratamento de lise com proteína K.

Para identificar a frequência alélica e genotípica em bovino leiteiros, Silva et al. (2011) coletaram amostras de sangue e utilizou o protocolo de Boyceet al. (1989). Trabalhando com a paternidade em bovinos, Curi & Lopes (2001) colheram amostras de sangue em cartões FTA de quarenta famílias de animais da raça Gir, sendo a extração realizada conforme instrução do fabricante (GIBCO BRL). Caldartet al. (2011), fizeram uma análise comparativa de métodos de extração de DNA de células as sangue e leite de ruminantes, por meio dos cartões FTA e DNAzol e Sílica.

Identificando e diferenciando herpesvírus bovino no Centro-Sul do Brasil, Argentina e Uruguai, Silva et al. (2007) realizaram as extrações de DNA por meio sedimento celular utilizando-se o reagente DNAzol (Invitrogen) de acordo com as instruções do fabricante. Descrevendo acerca da filogenia de papilomavírusem bovinos, Clauset al. (2007) combinaram duas técnicas de extração, sendo: fenol/clorofórmio/álcool isoamílico e sílica/tiocianato de guanidina conforme (Alfieriet al., 2006).

Com o objetivo de detectar o vírus da artrite encefalite caprina, Gregory et al. (2011) utilizaram o método de extração de DNA fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1). Em seu estudo sobre abortamento e natimortalidade em ovinos, Gressleret al. (2012) usaram á técnica de extração por meio do protocolo de CTAB (brometo de cetil trimetil amonio) precedido por uma digestão com 5μL de proteinase K (20mg/mL) por 60 minutos a 37°C, segundo (Sambrook & Russell, 2001).

Duas extrações independentes de DNA foram realizadas por Nunes et al. (2007a) para descrever aresistência a nematódeos gastrintestinais em ovinos. As amostras foram processadas através do seguinte protocolo: obtenção de leucócitos através da lise de 5 ml de sangue total com 5 ml de solução hemolítica durante 5 sequências de centrifugação por 10 min a 2000 rpm a 4°C. Em seguida, houve a ressuspensão de *pellet* em novos 5 ml desta solução, lise dos leucócitos com Proteinase K, seguida pela adição de NaCI 5M e centrifugação por 20 mm a 14000 rpm; adição ao sobrenadante de 2 volumes de Etanol absoluto; centrifugação por 5 min a 14000 rpm e nova lavagem com Etanol 70%. Ocorreu uma última centrifugação por 5 min a 14.000 rpm e eliminação do sobrenadante. Por fim, o *pellet* foi ressuspendido em 500 μL de TE pH 8,0 e estocado a 4°C por 16 horas.

Metodologias utilizadas em peixes

Trabalhando com a caraterização genética de estoques de *Prochilodus lineatus*, Barreroet al. (2008) utilizaram a metodologia descrita por Lopera-Barreroet al. (2008). Também utilizando a mesma metodologia anteriormente citada, Jacometoet al. (2010) dissertaram sobre a variabilidade genética em tambaquis (Teleostei:Characidae).

Para isolar *Flavobacterium columnare* de tilápia e do Nilo e piracanjuba, Sebastião et al. (2010) usaram como método de extração de DNA a resina de troca iônica InstaGene Matriz® (Bio-Rad, Laboratório Hexiles, CA), conforme protocolo sugerido pelo fabricante. Já

Marengoniet al. (2006) ao descreverem sobre peixes teleósteos, estes utilizaram os métodos com Proteinase K (Bardakci & Skibunski, 1994), adaptado por Povh et al. (2003) e Brometo de Cetil trimetil amônio (CTAB), proposto por Boyce & Zwick (1989) realizado com modificações.

Utilizando marcadores moleculares para análise de espécie e população de peixes de recifes de corais, Affonso (2004) usou a extração de DNA baseada na metodologia descrita por Sambrooket al. (1989) com modificações. Monitorando a variabilidade genética de *Piaractus mesopotamicus*, Povhet al. (2009) realizaram as extrações de DNA apartir de fragmentos de nadadeira caudal, utilizando a metodologia descrita por Aljanabi & Martinez (1997) modificada por Lopera-Barrero et al. (2008). Também estudando a variabilidade genética, porém de tilápias niloticas, Moreira et al. (2007) usaram como forma de extração a metodologia descrita conforme Taggart et al. (1992) modificado pelo uso de tampão STE (NaCl 0,1 M, Tris-HCl 0,05 M e EDTA 0,001 M, pH 8).

Nos estudos citogenéticos em três espécies do gênero *Astyanax* desenvolvidos por Fernandes (2006), o protocolo utilizado foi o descrito por Sambrooket al. (1989). Pesquisando marcadores moleculares espécie-específicos em populações de *Hypostomus*, Goeset al. (2011) usaram a metodologia para extração baseada em fenol/clorofórmio, segundo Sambrooket al.(1989).

Para caracterizar geneticamente seis plantéis comerciais de tilápia, Melo et al. (2006) utilizaram o kit de extração EZ DNA, segundo instruções do fabricante. Comparando protocolos de extração de DNA em diferentes tecidos de peixe-rei, Garcia et al. (2010) submeteram as amostras à três protocolos diferentes: Fenol – Clorofórmio (Bardakci & Skibinski, 1994); Cloreto de Sódio (Barrero et al., 2008) e Acetato de Amônia (Cloreto de Sódio modificado).

Verificando a diversidade genética de três estoques de piapara, Gomes et al. (2006), usaram a metodologia descrita por Bardakci & Skibinski (1994), modificada por Povh et al. (2005).

Metodologias utilizadas em humanos

Ao estudar a condição clínica conhecida como Homem XX, Damiani et al. (2005) coletaram sangue para extração de DNA de linfócitos periféricos pela técnica *salting out* ou por digestão com proteinase K e extração com fenol. Pesquisando acerca da padronização da técnica de extração de DNA de células de mucosa oral, Abrão et al. (2005) utilizaram dois métodos de extração, sendo estas: solução salina (NaCl) e o Kit comercial DNA isolation kit (Puregene, Gentra Systems, Minneapolis, MN, EUA).

Para detectar DNA de *Mycobacterium tuberculosis* em amostras provenientes de banco de sangue, Santos et al. (2010) utilizaram o cartão FTA® Classic Card. Após a secagem dos cartões, realizou-se a extração de DNA segundo instruções do fabricante do cartão. Em seu estudo, Cardozo et al. (2009) objetivaram padronizar uma metodologia de extração de DNA de alta qualidade a partir de amostras de sangue coagulado. Para isso, os autores utilizaram três metodologias de extração de DNA: método de extração por EZ-DNA®, o kit comercial de coluna e a extração de DNA por s*alting out.*

Para isolamento de DNA proveniente de bulbo capilar, Weber et al. (2010), testaram dois métodos de extração: uma solução salina (NaCl 4M) e fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1). Mesquita et al. (2001), utilizaram três procedimentos para extrair DNA de fragmentos de hiperplasia fibrosa inflamatória, sendo estes: extração com partículas de sílica baseado no trabalho de Boom et al. (1990); extração com fenol baseado no método descrito por Isola et al. (1994) e extração com sílica associada à digestão enzimática utilizando-se tampão de lise e proteinase K.

Estudos desenvolvidos com extração de DNA em material parafinado de amostras e arquivos de fontes escassas foram desenvolvidos por Vila-Costa et al. (2008). Pesquisas abordando o tecido tumoral de biópsias de câncer da orofaringe foram realizadas por Funabashi e Iwamura (2013). Os processos de extração encontram-se minuciosamente descrito pelos autores.

Ao avaliar a qualidade do DNA obtido de saliva humana, Carvalho et al. (2010) extrairam DNA baseado nas técnicas documentadas por

Umeda (1998), modificadas por Sakai et al. (2007). Também trabalhando com aspectos bucais, Libórioet al. (2005) avaliaram o DNA genômico de biópsias de boca embebidas em parafina, extraindo o DNA por meio de fenol/clorofórmio de acordo com Isola et al. (1994) e Mesquita et al. (2001).

Outras metodologias também utilizadas com materiais provenientes de fontes escassas são detalhadamente descritas por Bareaet al. (2004), como: digestão por proteinase K seguida por fenol e clorofórmio, digestão por proteinase K, sem fenol e clorofórmio, fervura em resina quelanteChelex 100® (BioRad), fervura em resina quelanteInstaGene Matrix (BioRad) e fervura em água estéril.

Metodologias utilizadas em outras espécies

Ao pesquisar sobre sacoide equina, Anjos et al. (2010) relataram que a extração de DNA viral foi realizada a partir de uma suspensão de 100 mg dos tumores em 900µL de tampão de lise 10mM Tris, 10mM EDTA (TE), 0,5% Nonited, 1% SDS, 0,001mg mL-1 proteinase K e incubados por 1h a 56°C. O DNA foi extraído com fenol:clorofórmio (1:1), precipitado com etanol absoluto por 2h a 20°C, centrifugado e ressuspenso em tampão TE.

Ao comparar protocolos de extração de DNA para formigas, Grutzmacheret al. (2002), testaram quatro protocolos diferentes, sendo estes: protocolo de acordo com Olerup & Zetterquist (1994), conforme Belshaw e Quicke, (1997), segundo Saghai-Maroof, (1984) e de acordo com Sambrook et al. (1989).

Acerca do vírus da anemia em galinhas, Simionattoet al. (2005), utilizara quatro diferentes protocolos de extração de DNA: extração com brometo de cetil trimetil amônia/cloreto de sódio (CTAB/NaCl) e extração com fenol/clorofórmio segundo (Sambrook & Russell, 2001); extração com dodecil sulfato de sódio/EDTA (Hirt, 1967) e extração com tiocianato de guanidina adaptado de Rademaker & Bruijn, 1997).

Para verificar a atividade tóxica de *Aedes aegypti*, Costa et al. (2010), extraíram DNA por meio do *Kit* Insta Gene Matrix (BioRad), segundo as instruções do fabricante. Nunes et al. (2007b), extrairam DNA de sangue periférico canino, conservados a -20° C por meio do *kit* GFX genomicblood (AmershamBiotech, Piscataway, New Jersey, USA).

Comparando diferentes protocolos de extração para as bactérias *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus e Staphylococcus epidermidis*, Baratto & Megioralo (2012) descreveram a extração com SDS (dodecil sulfato de sódio) indicado conforme Khoodooet al. (2002), extração com adição de SDS e Proteínase K segundo Sambrook et al. (1989) seguido de modificações propostas por Jin et al. (2006), extração térmica e método do cartão Whatman FTA (Classic Card).

Para extração de DNA da bactéria *Actinobacillus pleuropneumoniae* proveniente de pleuropneumonia suína, Souza et al. (2008) relatam como metodologia a técnica de Fan et al. (1995) modificada por Lo et al. (1998). Estudando sobre a variabilidade espacial da comunidade bacteriana intestinal de suínos, Pedroso et al. (2005)extraíram DNA utilizando-se o *kit* Fast DNA Spin (Bio 101, Vista, Califórnia), de acordo com as instruções do fabricante.

Analisando cromossomicamente o javali europeu e o suíno doméstico, Gimenzet al. (2003), coletaram amostras de sangue e usaram o *kit* de extração Genomic Prep TM Blood DNA Isolation *kit* (AMERSHAM PHARMACIA). Também trabalhando com suínos, Alonso et al. (2003) estudaram o efeito do gene receptor de prolactina, por meio da técnica de extração realizada segundo um protocolo da Pharmacia adaptado por Borges (1997).

Isolando *Salmonella* sp. de suínos, Muller et al. (2009)utilizaram a extração de DNA como descrito por Oliveira et al. (2003). Em seu experimento para identificar os agentes causadores de enterites em leitões, Calderaroet al. (2001) realizaram a extração de DNA conforme descrito por Boom et al. (1990).

Em sua pesquisa, Tamiozzoet al. (2011) descreveram a presença de *Mycoplasma hyop neumoniae* em granjas de suínos**,** por meio de DNA extraído usando-se o*kit* comercial (DNAzol®, InvitrogenTM, CA, EUA). Vieira et al. (2008) dissertaram sobre *Clostridium*

perfringens isolados de leitões diarréicos pela metodologia de extração térmica do DNA, a 95° C por 5 minutos, sem posterior purificação do material genético, como descrito por Baumset al. (2004).

Na detecção dos genes codificadores das proteínas EF, MRP e suilisina em amostras de *Streptococcus suis*, Calderaroet al.(2004)extraíram DNA através do método baseado na utilização de isotiocianato de guanidina (Pitcheret al., 1989). Por meio do protocolo adaptado de Boyceet al. (1989), utilizando-se o detergente catiônico CTAB (brometo de cetil-trimetilmônio), Sollero et al. (2006) verificaram a diversidade genética das raças suínas no Brasil.

Como metodologia para extração de DNA em sua pesquisa sobre leishmaniose visceral canina,Thomaz-Soccolet al. (2009) descreveram: foram adicionados 400 µL de tampão de lise (TE), pH = 8,0, 50 µL SDS a 10% e 5 µL de Proteinase K (20 mg.mL–1), em banho-maria, por 2 horas, a 56 °C. Posteriormente, desnaturou-se a proteinase K, aquecendo-se os tubos a 95°C por 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 5 µL de RNAse (20 mg.mL–1), homogeneizados e incubados em banho-maria, a 37°C, por 2 horas. Adicionou-se fenol saturado (fase inferior) volume/volume e, após a centrifugação, 10000 g por 5 minutos a 20 °C recuperou-se o sobrenadante e fez-se uma segunda extração com fenol. Após esse procedimento, foi adicionado fenol clorofórmio (volume/volume) e nova centrifugação (10000 g, 5 minutos, a 20 °C).

Comparando protocolos paraextração do DNA de *Lernaea* sp., Valentim et al. (2003),testaram os métodos: protocolo utilizando hexadecyltrimethylamoniumbromide(CTAB), descrito por Black IV et al. (1996), com algumas modificações e o Protocolo com "Kit Puregene DNA Isolation" (GENTRA), para extração de DNA de tecidos sólidos, modificando apenas a quantidade de proteinase K.

Outras metodologias como os métodos Doyle & Doyle, Cheung, Walsh e Yu são minuciosamente descritas por Carvalho & Vieira (2001), em seu estudo com *Atta sexdensrubropilosa*.

Considerações finais

As metodologias utilizadas nos processos de extração de ácido desoxirribonucleico surgem conforme os critérios necessários para o desenvolvimento das pesquisas, como: segurança, tempo, economia, qualidade e quantidade de DNA extraído.

A extração do ácido desoxirribonucleico é a primeira etapa necessária para iniciar os estudos genéticos.

Referências

Abrahão, M. G.; Billerberg, A. E. C.; Nishi, M. Y.;Marui, S.; Mendonça, B. B.Padronização da técnica de extração de DNA de células de mucosa oral com NaCl: Aplicação no estudo do gene PROP1.Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica, v. 49, n. 6, Dezembro, 2005.

Affonso, P. R. A. M. Marcadores moleculares na análise de espécies e composição populacional de peixes marinhos de recifes de corais da Família Pomacanthidae (Peciformes). Tese (Doutorado em Ciências Biológicas –Genética e Evolução). 2004. 158p. Universidade Federal de São Carlos, 2004.

Alfieri A. A.; Parazzi, M. E.; Takiuchi E.; Médici, K. C.; Alfieri, A. F. Frequency of group A rotavirus in diarrhoeic calves in Brazilian cattle herds, 1998- 2002. Tropical Animal Health and Prodution, v. 38, p. 521-526, 2006.

Aljanabi, S.M.; Martinez, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques.NucleicAcidsResearch, v.25, p.4692-4693, 1997.

Almeida, G. M. Caracterização genética da raça pé-duro utilizando microssatélites ancorados. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). 2008. 92 f. Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, 2008.

Alonso, V.; Santana, B. A. A.; Pirage Júnior, W.; Goulart, L. R.; Diniz, H. S.; Machaim, M. F.; Borges, G. S. N. Efeito do gene receptor de prolactina sobre características quantitativas

de interesse econômico em suínos.Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 40, p. 366-372, 2003.

Anjos, B. L.; Silva, M. S.; Brio, A. D. M. F.; Seppa, G. S.; Brum, M. C. S. Sarcoide equino associado ao papilomavírus bovino BR-UEL-4.Ciência Rural, Santa Maria, v.40, n.6, p.1456-1459, jun, 2010.

Baratto, C. M.; Megiolaro, F. Comparação de diferentes protocolos de extração de DNA de bactérias para utilização em RAPD-PCR.Unoesc & Ciência – ACET, Joaçaba, v. 3, n. 1, p. 121-130, jan./jun. 2012.

Barea, J. A.; Pardini, M. I. M. C.; Gushiken, T. Extração de DNA de materiais de arquivo e fontes escassas para utilização em reação de polimerização em cadeia (PCR). Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 26, n. 4, p. 274-281, 2004.

Bardakci, F.; Skibinski, D.O.F. Applicationofthe RAPD technique in tilapiafish: speciese subspeciesidentification. Heredity, v. 73, p. 117-123, 1994.

Barrero, N. M. L.; Ribeiro, R. P.; Vargas, L.; Povh. J. A.; Gomes, P. C.; Mangolin, C. A. Caracterização genética de estoques de *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiformes: Prochilodontidae), utilizados em programas de repovoamento: importância para a conservação da ictiofauna e do ecossistema. Bioscience Journal,Uberlândia, v. 24, n. 4, p. 86-93, Oct./Dec. 2008.

Baums, C.G.; Schotte, U.; Amtsberg, G.; Goethe, R. Diagnostic multiplex PCR for toxin genotyping of *Clostridium perfringens* isolates. Veterinary Microbiology, v.100, p.11-16, 2004.

Beckett, S. M.; Laughton, S. J.; Pozza, L.D.; McCowage, G.B.; Marshall, G.; Cohn, R.J.; Milnes, E.; Ashton, L.J. Buccal Swabs and Treated Cards: Methodological Considerations for Molecular Epidemiologic Studies Examining Pediatric Populations. American Journal of Epidemiology, v. 167, p. 1260-1267. 2008.

Belshaw, R.; Quicke, D. L. J. A molecular Phylogeny of the Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). Molecular Phylogenetics and Evolution, v.7, n. 3, Ascot, United Kingdon. p. 281 – 293. 1997.

Black I. V, W. C.; Klopen, J. S.; Keirans, J. E.Phylogenetic Relationships among Tick Subfamilies (Ixodida: Ixodidae:Argasidae) Based on the 18 S Nuclear rDNA Gene. Molecular Phylogenetic Evolution, Orlando, v.7, n.1, p.129-144, 1996.

Boom, R.; Sol, C. J. A.; Salimans, M. M. M.; Jansen, C. L.; Wertheim-Van, D. P. M.; Van, D. N. J.Rapid and simple method for purification of nucleic acids. JournalofClinicalMicrobiology, v. 28, n. 3, p. 495-503, Mar. 1990.

Borges, M. Marcadores moleculares e seus efeitos sobre características quantitativas de bovino de corte, 1997. 119 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 1997.

Borisenko, A.V.; Lim, B.K.; Ivanova, N.V.; Hanner, R.H.; Hebert, P.D.N. DNA barcoding in surveys of small mammal communities: a field study in Suriname. Molecular Ecology Notes, v. 8, p. 471-479. 2007.

Boyce, T. M.; Zwick, M. E.; Aquadro, C. F. Mitochondrial DNA in bark weelvils: size, structure, and heteroplamy. Genetics, v. 123, p. 825-836, 1989.

Bueno, V. DNA e aperfeiçoamento das técnicas de extração. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v.26, n. 4, p. 233-234, 2004.

Caldart, E. T.; Chiappetta, C. M.; Lopes, S, E. F.; Ravazzolo, A. P. Análise comparativa de métodos de extração de DNA genômico de células do sangue e do leite de pequenos ruminantes. Acta ScientiaeVeterinariae, v. 39, n. 1, p. 995, 2011.

Calderaro, F. F.; Baccaro, M. R.; Moreno, A. M.; Ferreira, A. J. P.; Jerez, A. J.; Pena, H. J. F.Frequência de agentes causadores de enterites em leitões lactentes provenientes de sistemas de produção de suínos do estado de São Paulo. Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, v.68, n.1, p.29-34, jan./jun., 2001.

Calderaro, F. F.; Doto, D. S.; Baccaro, M. R.; Paixão, O, R.; Gomes, C. R.; Castro, A. F. P.; Moreno, A. M.Detecção dos genes codificadores das proteínas ef, mrp e suilisina em amostras de *Streptococcus suis* sorotipo 2 isoladas em suínos no brasil.Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, v.71, n.1, p.15-19, jan./mar., 2004.

Cardozo, D. M.; Guelsin, G. A.; Clementino, S. L.; Melo, F. C.; Braga, M. A.; Souza, C.; Moliterno, R. A.; Visentainer, J. E. L. Extração de DNA a partir de sangue humano coagulado para aplicação nas técnicas de genotipagem de antígenos leucocitários humanos e de receptores semelhantes à imunoglobulina. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 42, n. 6, p. 651- 656, 2009.

Carvalho, A. O. R.; Vieira, L. G. E. Determinação das condições ótimas para análises de PCR-RAPD em *Atta sexdensrubropilosa*Forel (*Hymenoptera: Formicidae*). Neotropical Entomology, v. 30, n. *4*, p. 593-600, 2001.

Carvalho, S. P. M.; Sales-Peres, A.; Ribeiro-Bicudo, L. A.; Silva, R. H. A.Avaliação da qualidade do DNA extraído de saliva humana armazenada e sua aplicabilidade na identificação em Odontologia Legal. RevistaOdontoCiência, v. 25, n. 1.P. 48053, 2010.

Caudron, N, A. K.; Negro, S. S.; Muller, C. G.; Boren, L. J.; Gemmell, N. J. Hair sampling and genotyping from hair follicles: a minimally-invasive alternative for genetics studies in small, mobile pinnipeds and other mammals. Marine Science, v. 23, p. 184-192, 2007.

Claus, M. P.; Vivian, D.; Lunardi, M.; Alfieri, A. F.; Alfieri, A. A. Análise filogenética de papilomavírus bovino associado com lesões cutâneas em rebanhos do Estado do Paraná. PesquisaVeterináriaBrasileira, v. 27, n. 7, p. 314-318, julho 2007.

Clements, D. N.; Wood, S.; Carter, S. D.; Ollier, W. E. R. Assessment of the quality and quantity of genomic DNA recovered from canine blood samples by three different extraction methods. Research in Veterinary Science. v. 85, n. 1, p. 74-79, 2008.

Costa, J. R. V.; Rossi, J. R.; Marucci, S. C.; Alves, E. C. C.; Volpe, H. X. L.; Ferrado, A. S.; Lemos, M. V. F.; Dsidério, J. A. Atividade Tóxica de Isolados de *Bacillusthuringiensis*a Larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Neotropical Entomology. v. 39, n. 5, p.:757-766, 2010.

Curi, R. A.& Lopes, C. R. Teste de paternidade por microssatélites em bovinos da raça Gir. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento - nº 21 - julho/agosto 2001.

Damiani, D.; Guedes, D. R.; Damiani, D.; Dichtchkenian, V.; Coelho Neto, J. R.; Maciel-Guerra, A. T.; Guerra-Júnior, G.; Mello, M. P.; Setian, N. Homem XX: Relato de Três Casos na Faixa Etária Pediátrica.ArquivoBrasileiro de Endocrinologia e Metabologia, v. 49, n. 1, Fevereiro, 2005.

Fan, H. H.; Kleven, S. H.; Jackwood, M. W. Aplication of polimerase chain reaction with arbitrary to strin identification of *Mycoplasmagallisepticum.*AvianDiseases, v. 39, p. 729-735, 1995.

Fernandes, C. A. Estudos citogenéticos em três espécies do gênero *Astyanax*, com ênfase no DNA ribossomal. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Bilogia Celular). 2006. 74 p. Universidade Estadual do Paraná. 2006.

Funabashi, K. S.; Iwamura, E. S. M. Extração de DNA para análise da amelogenina em amostras fixadas em formalina, incluídas em parafina e armazenadas por 1 e 5 anos no Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo.Saúde, Ética & Justiça, v. 8, p. 39-44, 2013.

Garcia, V. H.; Tavares, R. A.; Nunes, M. D.; Almeida, D. B.; Moreira, H. L. M. Comparação de protocolos de extração de dna em diferentes tecidos de peixe-rei para a análise de marcadores moleculares. Anais... XII Enpos – amostra científica da Universidade Federal de Pelotas, 2010.

Gimezez, D. L.; Mota, L. S. L. S.; Curi, R. A.; Rosa, G. J. M.; Gimenes, M. A.; Lopes, C. R.;

Lucca, E. J. Análise cromossômica e molecular do javali europeu *Susscrofascrofa* e do suíno domésticoSusscrofadomesticus. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 40, p. 146-154, 2003.

Goes, P. R. N.; Monteiro, M. A.; Oliveira, A. V.; Guedes, A. A. S. Padronização das condições de amplificação da técnica rDNA 5s, para obtenção de marcadores moleculares espécie-específicos em populações de *Hypostomus* do rio Ivaí. Inciação Científica CESUMAR , v. 13, n. 1, p . 31-35, 2011.

Gomes, P. C.; Ribeiro, R. P.; Barrero, N. L.; Povh, J. A.; Vargas, L.; Sirol, R. N.Diversidade genética de três estoques de piapara (Leporinuselongatus), utilizando RAPD. ActaScientiaruam.Animal Sciences, Maringá, v. 30, n. 2, p. 241-247, 2008.

Gonzáles, L. A. G.;Tapia, J. P. R.; Lazo, P. S.; Ramos, S.; Suárez-Neto, C. DNA extraction using chelex resin for the oncogenic amplification analysis in head and neck tumours. Acta Otorrino-laringológicaEspañola, v. 55, p. 139-144, 2004.

Gregory, L.; Lara, M. C. S. H.; Hasegawa, M. Y.; Castro, R. S.; Rodrigues, J. N. M.; Araújo, J.; Keller, L. W.; Silva, L. K. F.; Durigon, E. L. Detecção do vírus da artrite encefalite caprina no sêmen através das técnicas de pcr e nested-PCR. Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, v.78, n.4, p.599-603, out./dez., 2011.

Gressler, L. T.; Kirinus, J. K.; Machado, G.; Libardoni, F.; Vargas, A. C. *Campylobacterfetus* subespécie *fetus*: abortamento e natimortalidade em ovinos. Ciência Rural, Santa Maria, v.42, n.4, p.697-700, abr, 2012

Grutzmacher, D. D.; Zimmer, P. D.; Oliveira, A. C.; Loeck, A. E.; Fischer, S.; Elias, S. A.; Vargas, C. C. J. Comparações de protocolos paara extração de DNA de *Acromyrmex heyeri*. Revista Brasileira de Agrociência, v. 8, n. 2, p. 165-167, mai-ago, 2002.

Hirt, B. Selectiveextractionofpolyoma DNA frominfected mouse cellcultures. Journal of Molecular Biology, v. 26, p. 365-369. 1967.

Isola, J.; DeVries, S.; Chu, L.; Ghazvini, S.; Waldman, F. Analysis of changes in DNA sequences copy number by comparative genomic hybridization in archival paraffin-embedded tumor sample. American JournalofPathology, v. 145, n. 6, p. 1301-8, 1994.

Jacometo, C. B.; Barrero, N. M. L.; Rodriguez-Rodrigues, M. D. P.; Gomes, P. C.; Payh, J. A.; Streit Júnior, D. P.; Vargas, L.; Resende, E. K.; Ribeiro, R. P. Variabilidade genética em tambaquis (Teleostei: Characidae) de diferentes regiões do Brasil.Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.45, n.5, p.481-487, maio 2010.

Jin, J. D.; Lee, D. S.; Shin, E. K.; Kim, S. J.; Jung, R.; Hahn, T. W. Molecular typing random amplification of polymorphic DNA (RAPD) and detection of virulence genes of *Salmonella entérica*serovarGallinarumBiovarGallinarum. The Japanese Society of Veterinary Science. n. 68, p. 1321-1326, 2006.

Khoodoo, M. H. R.; Issack, M. I.; Jaufeerally-Fakim, Y. Serotyping and RAPD profiles of Salmonella enterica isolates from Mauritius. Letters in ApplieMicrobiology. v. 35, p. 146-152, 2002.

Libório, T. N.; Etges, A.; Neves, A. C.; Mesquita, R. A.; Nunes, F. D. Avaliação do DNA genômico obtido de biópsias de boca embebidas em parafina e arquivadas por até 40 anos.Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 41, n. 6, p. 410-9, dezembro, 2005.

Lo, T. M.; Ward, C. K.; Inzana, T. J. Detection and identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae serotype* 5 by multiplex PCR. Journal of Clinical Microbiology, v .36, p. 1704-1710, 1998.

Lopera-Barrero, N. M.; Povh, J. A.; Ribeiro, R. P.; Gomes, P. C.; Jacometo, C. B.; Lopes, T. S. Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracciónmodificada con sal (NaCl). Ciencia e Investigación Agraria, Santiago, v. 35, n. 1, p. 15-24, 2008.

Magajevski, F. S.; Gírio, R. J. S. Avaliação da sensibilidade da pcr frente a quatro técnicas para extração de dna de *Leptospira interrogans*sorovarpomona em sêmen bovino experimentalmente contaminado.ARS Veterinaria, Jaboticabal – SP, v. 24, n. 1, p. 029-033, 2008.

Marengoni, N. G.; Machado, M. R. F.; Gasparino, E. Extração de DNA genômico em tecidos sólidos de peixes teleósteos.Semina: CiênciasAgrárias, Londrina, v. 27, n. 1, p. 99-106, jan./mar. 2006.

Medrano, J. F.; Aasen, E.; Sharrow, L. DNA extraction from nucleated red blood cells.BioTechniques, v. 8, n. 1, p. 43, 1990.

Melo, D. C.; Oliveira, D. .A. A.; Ribeiro, L. P.; Teixeira, C. S.; Souza, A. B.; Coelho, E. G. A.; Crepaldi, D. V.; Teixeira, E. A. Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária eZootecnia, v.58, n.1, p.87-93, 2006.

Mendonça, F. S.; Dória, R. G. S.; Schein, B.; Freitas, S. H.; Nakazato, L.; Boabaid, F. M.; Paula, D. A. J.;Dutra, V.; Colodel, M. Febre catarral maligna em bovinos no Estado de Mato Grosso.Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 28, n. 3, p.155-160, março, 2008.

Mesquita, R. A.; Anzai, E.; Oliveira, R. N.; Nunes, F. D. Avaliação de três métodos de extração de DNA de material parafinado para amplificação de DNA genômico pela técnica da PCR. Pesquisa Odontológica Brasileira, v. 15, n. 4, p. 314-319, out./dez. 2001.

Moreira, A. A.; Hilsdore, A. W. S.; Silva, J. V.; Souza, V. R. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites.Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.42, n.4, p.521-526, abr. 2007.

Muller, M.; Schwars, P.; Kich, J. D.; Cardoso, M. Perfil sorológico e de isolamento de *Salmonella* sp. em suínos no início da terminação e ao abate. Ciência Animal Brasileira, v. 10, n. 3, p. 931-937, jul./set. 2009.

Nunes, A. P.; Oliveira, A. C.; Bernes, M. E. A.; Borba, M. F. S.; Echeverria, F.; Vaz, C. M.; Carvalho, F. I. F. Estudo da variabilidade genética de resistência a nematódeos gastrintestinais em ovinos da raça Corriedale com marcadores RAPD. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v.13, n.1, p.25-33, jan-mar, 2007.

Nunes, C. M.; Diaa, A. K. K.;Gottardi, F. P.; Paula,H. B.; Azevedo, M. A. A.; Lima, V. M. F.; Garcia, J. F. Avaliação da reação em cadeia pela polimerase para diagnóstico da leishmaniose visceral em sangue de cães.Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 16, n.1, p. 5-9, 2007.

Oliveira, S. D.; Rodenbusch, C. R.; Cé, M. C.; Rocha, S. L. S.; Canal, C. W. Evaluationofselectiveand non-selectiveenrichment PCR procedures for *Salmonella*detection. Letters in AppliedMicrobiology, v. 36, p. 217-221, 2003.

Oliveira, M. C. S.; Reginato, L. C. A.; Roese, A. D.; Antonishen, D. G.; Patrocínio, E.; Parma, M. M.; Scagliusi, S. M. M.; Timóteo, W. H. B.; Jardim, S. N. Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, São Paulo, 2007. Disponível em: http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/48295/1/LivroProtMolecular.pdf. Acesso em 13 de março de 2014.

Olerup, O.; Zetterquist, H. HLA-DR typing by PCR amplification witch sequence Specific primer (PCR-SSP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-repient matching in cadaveric transplantation. TissueAntigens, v. 39, p. 225-235, 1994.

Pedroso, A. A.; Oetting, L. L.; Utyuama, C. E.;Menten, J. M.; Lambais, M. R.; Miyada, V. S. Variabilidade Espacial da Comunidade Bacteriana Intestinal de Suínos Suplementados com Antibióticos ou Extratos Herbais. RevistaBrasileira de Zootecnia, v.34, n.4, p.1225-1233, 2005.

Pitcher, D.G.; Sauders, N.A.; Owen, R.J. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidiumthiocyanate.Letters in AppliedMicrobiology, v.8, n.5, p.151-156, 1989.

Povh, J. A.; Blanck, D. V.; Petronilo, V.; Moreira, H. L. M.; Rbeiro, R. P.; Vargas, L., Cavallieri, R. F. D.; Benites, C. Comparação de duas linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromisniloticus*). In: Congresso Internacional de Zootecnia, 5., Congresso Nacional de Zootecnia, 12., 2003, Uberaba. Anais... Uberaba: ABCZ – ABZ, 2003. p.417-421.

Povh, J.A.; Moreira, H. L. M.; Ribeiro, R. P.; Prioli, A. J.;Vargas, L.; Blanck, D. V.; Gasparino, E.; Streit Júnior, D. P. Estimativa da variabilidade genética em linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromisniloticus*) com a técnica de RAPD. Acta Scientiarum - Animal Sciences, Maringá, v. 27, n. 1, p. 1-10, 2005.

Povh, J. A.; Ribeiro, R. P.; Lopera-Barrero, N. M.; Gomes, P. C.; Blanck, D. V.; Vargas, L.; Jacometo, C. B.; Lopes, T. S.Monitoramento da variabilidade genética de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, do programa de aumento de estoque do rio Paranapanema. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária eZootecnia, v.61, n.5, p.1191-1195, 2009.

Rademaker, J. L. W.; Brujin, F. J. Characterization and classification of microbes by REP-PCR genomic fingerprinting and computer-assisted pattern analysis, p.151-171. In: Caetano-Anollés G. & Gresshoff P.M. (ed.) DNA Markers: Protocols, Applications, and Overviews. J. Wileyand Sons, New York, 1997.

Rheingantz, M. G. T.; Pegorara, L. M. C.; Dellagostini, O. A.; Pimentel, A. M.; Bernardi, M. L.; Deschamps, J. C.Proporção macho:fêmea de embriões bovinos cultivados na presença ou ausência de glicose após FIV com espermatozóides selecionados por Swim-up ou Gradiente de Percoll.BrazilianJournalofVeterinaryResearch and Animal Science, n. 41, p. :32-39, 2004.

Ribeiro-Silva & Garcia, S. B. Estudo comparativo de três diferentes procedimentos para extração e RNA a partir de amostras fixadas em formalina e embebidas em parafina. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 44, n. 2, p. 123-130, 2008.

Saghai-Maroof, M. A.; Soliman, K. M.; Jorgensen, R.A. Ribosomal DNA spacer-length polymorphismis in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences USA.81, p. 8014-8018, 1984.

Sakai, V. T,; Campos, M. R.; Machado, M. A.; LaurisJúnior, G. A. S,; Santos, C. F. Prevalence of four putative periodontopathic bacteria in saliva of a group of Brazilian children with mixed dentition: 1-year longitudinal study. InternationalJournalofPaediatricDentistry, v. 17, p. 192-199, 2007.

Salman, A. K. D.; Laureano, M. M. M. Protocolos para extração de DNA genômico de amostras de pelos de bovinos. Circular Técnica, Embrapa, Porto Velho, 2006. Disponível em: http://www.cpafro.embrapa.br/media/arquivos/publicacoes/ct87_.pdf. Acessado em 13 de março de 2014.

Sambrook, J., Fritsch, E. F. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2. Ed. New York: Cold Spring Laboratory, 9.16-9.23, 1989.

Sambrook, J.; Fritschi, E.F.; Maniatis, T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2. Ed..Cold Spring Harbor Laboratory Press, v. 1, 1989.

Sambrooks, J.; Russel, D. W. Molecular Cloning.A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 3ª edição, 2001.

Santos, A.; Cremades, R.; Rodriguez, J. C.; Garcia-Panchon, E.; Ruiz, M.; Roy, G. Comparison of methods of DNA extraction for real-time PCR in the a model of pleural tuberculosis. Acta Pathologica, MicrobiologicaImmunologicaScandinaviaa. v. 118, n. 1, p. 60-65, 2009.

Santos, C. F.; Angelis, S.; Michelon, C.; Schmid, K.;Silva, M. S. N.; Rosseti, M. L. R.*Detecção de DNA de* Mycobacterium tuberculosis*em amostras de sangue total utilizando o sistema* FTa® card.Revista de Iniciação Científica da ULBRA, P. 85-91, 2009/2010.

Sebastião, F. A.; Pilarski, F.; Lemos, M. V. F. Caracterização Molecular de isolados de *Flavobacterium columnare* detilápia do Nilo e piracanjuba por meio de RAPD-PCR. Instituto de Pesca, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 325-331, 2010.

Silva, M. S.; Brum, M. C. S.; Weiblen, R.; Flores, E. F. Identificação e diferenciação de herpesvírus bovino tipos 1 e 5 isolados de amostras clínicas no Centro-Sul do Brasil, Argentina e Uruguai (1987-2006). Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 27, n. 10, p. 403-408, outubro 2007.

Silva, S. C. C.; Vesco, A. P.; Luizzeti, F.; Gasparino, E.;Bagatoli, A.; Marques, L. A.; Voltolini, D. S. M.; Oliveira, D. P.; Souza, K. R. S. Frequencia alélica e genotípica do gene *DGAT1* em uma população de bovinos de leite. Archivos de Zootecnia, v. 60, n. 232, p. 1343-1346, 2011.

Simionato, S.; Lima-Rosa, C. A. V.; Rubin, L. L.; Canal, C. W. Um protocolo de *"*nested-PCR*"* para detecção do vírus da anemia das galinhas. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 25, n. 2, p. 106-110, abr./jun. 2005

Sollero, B. P. Diversidade genética das raças naturalizadas de suínos no Brasil por meio de marcadores microssatélites. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). 2006. 87 f. Universidade de Brasília, 2006.

Souza, K. K.; Klein, C. S.; Kich, J. D.; Coldebella, A.; Alberton, G. C. Otimização da técnica de PCR para a detecção de *Actinobacillus pleuropneumoniae.* Ciência Rural, Santa Maria, v. 28, n. 8, p. 2239-2244, 2008.

Taggart, J.B.; Hynes, R.A.; Prodöuhl, P.A.; Ferguson, A.A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes.JournalofFishBiology, v.40, p.963-965, 1992.

Takiuchi, E.; Médici, K. C.; Alfieri, A. F.; Alfieri, A. A. Otimização da reação em cadeia pela polimerase (*SemiNested*-PCR) para a detecção do herpesvírus bovino tipo 1 em fragmentos de órgãos fetais e em sêmen de bovinos naturalmente infectados.Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 24, n. 1, p. 43-56, jan./jun. 2003.

Tamiozzo, P. J.;Pelliza, B. R.; Carranza, A. I.; Ambrogi, A. Monitoramento da presença de *Mycoplasmahyopneumoniae*em granjas de suínos durante a implementação de programas de erradicação. Ciência Rural, v.41, n.4, abr, 2011.

Thomza-Soccol, V.; Castro, E. A.; Navarro, I. T.; Farias, M. R.; Souza, L. M.; Carvalho, Y.; Bispo, S.; Membrive, N. A.; Minozzo, J. C.; Truppel, J.; Bueno, W.; Luz, E. Casos alóctones de leishmaniose visceral canina no Paraná, Brasil: implicações epidemiológicas.Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 46-51, jul.-set. 2009.

Umeda M. The utility of whole saliva to detect the oral presence of periodontopathic bacteria.Journal of Periodontoly, v. 69, p. 828-33, 1998.

Valderrama, X.; Karesh, W. B.; Wildman, D. E.; Melnick, D. J.; Noninvasive methods for collecting fresh hair tissue. Molecular Ecology Notes, v. 8, p. 1749-1754, 1990.

Valderrama, X.; Karesh, W. B.; Wildman, D. E.; MelnickK, D. J. Noninvasive methods for collecting fresh hair tissue, Molecular Ecology Technical Notes, v. 8, p. 1749-1742, 1999.

Valentim, M.; Vargas, L.; Moreira, H. M.; Ribeiro, R. P. Comparação de protocolos para extração do DNA de *Lernaea* sp. (Copepoda: cyclopoida).Acta Scientiarum. Animal Sciences Maringá, v. 25, n. 2, p. 219-222, 2003.

Vieira, A. A. S.; Guedes, R. M. C.; Salvarini, F. M.; Silva, F. M.; Assis, R. A.; Lobato, F. C. F. Genotipagem de *Clostridium perfrigens* de leitões diarréicos. Arquivos do Instituo Biológico, São Paulo, v.75, n.4, p.513-516, out./dez., 2008.

Vieira, G. S.; Tavares, C. A. P.; Boucharde, F. C. H. Análise de DNA em odontologia forense: Analysisof DNA in forensicdentistry. Arquivo Brasileiro de Odontologia, Minas Gerais, v. 2, n.6, p. 64-70, 2010.

Vilanova-Costa, C. A. S. T.; Nóbrega, J. B.; Caruz, R. S. A. D. Extração e purificação de DNA em material biológico parafinado. Estudos, Goiânia, v. 35, n. 1/2, p. 143-152, jan./fev. 2008.

Waldschimidt, A. M.; Salomão, T. M. F.; Barros, E. G.; Campos, L. A. O. Extractionofgenomic DNA fromMeliponaquadrifasciata (*Hymenoptera: Apidae*, Meliponinae). Brazilian Journal of Genetics, RibeirãoPreto, v. 20, n. 3, p. 421-423, 1997.

Weber, L. I.; Hildebrand, C. G, ; Ferreira, A.; Pederessi, G. C.; Sabaj, J. A. L.; Colares, E. P. Microsatellite genotyping from faeces of Lontralongicaudis from southern Brazil. Iheringia, v. 99, n. 1, p. 5-11, 2009.

Weber, G. R.; Disner, R, G. R.; Nicolau, L. S.; Giovanaz, G.; Trott, A.; Miranda, A, G. B.Uso de solução salina (NaCl) na extração de DNA a partir de bulbo capilar.Evidência, Joaçaba v. 10 n. 1-2, p. 115-120, janeiro/dezembro 2010.

Recebido em Maio 13, 2014.

Aceito em Agosto 12, 2014.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.