

EXTRAÇÃO DE DNA E SELEÇÃO DE *PRIMERS* MULTILOCUS PARA AVALIAÇÃO DE DIVERSIDADE EM *Bertholletia excelsa*.

Elionélio Barros Wilson¹; Ádrya Samy Cardoso¹; Cássia Ângela Pedroso², Luiz Alberto Pessoni^{1*}

¹CBio - Universidade Federal de Roraima. ²Embrapa Roraima.*luizpessoni@yahoo.com.br

A castanheira do Brasil (*B. excelsa* Humb. & Bonpl.) produz um dos principais recursos extrativistas não madeireiros da Amazônia. Por outro lado, a produção nacional é decrescente desde os anos de 1970 em decorrência, principalmente, do avanço do desmatamento na região. Paralelamente, a reversão do extrativismo para o cultivo é limitada por diversos fatores, destacando-se: dificuldades de propagação, período juvenil muito longo e inconsistência na regularidade de produção. Por isso, a silvicultura da espécie orientada para a produção de frutos/sementes depende, entre outros fatores, de uma melhor compreensão de certos aspectos da biologia reprodutiva da planta e da disponibilização de material genético de qualidade superior para melhoramento. Os objetivos do presente trabalho foram: ajustar procedimentos de coleta e conservação de material para extração de DNA e seleção de marcadores moleculares apropriados para investigar variabilidade genética de castanhais de Roraima. O material biológico utilizado foi proveniente de três parcelas permanentes (9 ha cada) instaladas em áreas de populações nativas distanciadas, no mínimo, por 50 km. Amostras do câmbio vascular de 23 matrizes foram coletadas e preservadas em sílica gel ou em solução de transporte (30% tampão CTAB:70% etanol) até o momento de extração do DNA. Amostras foliares das respectivas progênies (entre 10 e 16 indivíduos/matriz) foram obtidas de plântulas originadas de sementes, germinadas em casa de vegetação. As extrações a partir do câmbio foram realizadas com maceração do tecido diretamente no tampão de extração. O DNA das progênies foi obtido pela pulverização prévia do tecido foliar em nitrogênio líquido. Em todos os casos foi utilizado o tampão CTAB modificado (2,8% do detergente CTAB e 1,3M NaCl). Testes de amplificação foram executados com 20 *primers* ISSR e os resultados foram avaliados em gel de agarose a 1,5% p.v. Comparativamente, extrações a partir de amostras preservadas em solução de transporte resultaram em maior rendimento de DNA do que aquelas preservadas em sílica. Nos dois casos, entretanto, foi possível obter DNA de boa qualidade mesmo após 40 dias da data de coleta. O rendimento médio de DNA extraído a partir de tecido foliar foi superior ao obtido a partir de tecido cambial, porém, em muitos casos, a amostra recuperada ainda possuía contaminantes, exigindo etapas adicionais para sua purificação. Do total de *primers* testados, pelo menos oito mostraram-se apropriados para investigar a diversidade entre e dentro das famílias de meios-irmãos.

Palavras-chave: Castanheira; recursos genéticos florestais; marcadores moleculares

Agradecimentos: Embrapa-RR, UFRR