

OBTENÇÃO DE DNA PURIFICADO DE *Pochota fendleri* - UMA TAREFA DESAFIADORA

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

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

O cedro doce (*Pochota fendleri* ((Seem.) W. S. Alverson & M. C. Duarte)) é uma espécie madeirável da família Malvaceae com distribuição natural desde a América Central até o Norte da América do Sul, incluindo o Estado de Roraima. Contudo, o extrativismo desordenado e o avanço geral do desmatamento reduziram drasticamente os estoques naturais nas últimas décadas. Por outro lado, diversos trabalhos já demonstraram a viabilidade econômica de cultivo da espécie. Todavia, a seleção de matrizes e a execução de programas de melhoramento dependem da caracterização adequada dos recursos genéticos disponíveis, sendo a obtenção de DNA purificado uma etapa importante do processo. Nesse trabalho procurou-se padronizar um procedimento de extração de DNA total para o emprego na caracterização da diversidade genética de amostras populacionais de *P. fendleri*. O material vegetal foi obtido de indivíduos de diferentes procedências do Estado e cultivados em área experimental. Foram testados diversos tipos de materiais vegetativos: gemas ou brotos foliares, folhas jovens em expansão, folhas jovens expandidas, folhas maduras e câmbio. Os tecidos foliares foram previamente liofilizados ou apenas congelados e pulverizados em nitrogênio líquido imediatamente antes da extração. O tecido cambial foi coletado em tampão CTAB e mantido sob refrigeração até o momento da extração. Nos últimos 36 meses foram testados diversos protocolos baseados em solventes descritos na literatura visando obter DNA a partir amostras foliares. Também foram avaliados kits comerciais de quatro marcas diferentes. Contudo, a elevada quantidade de mucilagem presente no material foliar provoca agregação das partículas pulverizadas quando colocadas em suspensão e dificulta muito a separação de fases, quando se utilizou solventes ou, entupimento dos filtros, quando foram utilizados Kits. Os melhores resultados foram obtidos a partir de tecido liofilizado combinado com um protocolo CTAB modificado. Porém, o DNA recuperado sempre apresenta impurezas que provocam sua degradação em poucos dias e nenhuma tentativa de purificação posterior foi bem sucedida. Apenas um dos kits testados apresentou resultado positivo em relação à qualidade, mas com baixa quantidade de DNA por amostra. Extrações a partir de tecido cambial foram testadas apenas com o protocolo CTAB modificado e os resultados preliminares indicam que a quantidade e qualidade do DNA recuperado, além do custo unitário, são adequadas para uso posterior em reações de PCR visando a genotipagem de um grande número de indivíduos.

Palavras-chave: *Pachira quinata*; recursos genéticos florestais; extração de DNA

Agradecimentos: CNPq (processo 457834/2014-5); Embrapa Roraima