

A Amazônia na Era Genômica e Pós-Genômica



4º ENCONTRO DE GENÉTICA DO AMAZONAS
1º ENCONTRO DE GENÉTICA DA REGIÃO NORTE

LIVRO DE RESUMOS

5

1
P-2010.00288

Livro de resumos.
2003 PC-PP-2010.00288

2003, Manaus - AM



CPAA-24360-1

AJUSTES DAS CONDIÇÕES DE RAPD-PCR PARA A CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE PAU-ROSA (*Aniba rosaeodora*, Ducke)

Oliveira, CL₁; Santos, RP₂; Cruz, JC₃; Quisen, RC₃; Sampaio, PTB₂; Angelo, PCS₃.
1 UFAM, Campus Universitário, Aleixo, Manaus AM. 2 INPA, Al. Cosme Ferreira, 1756, Aleixo, CEP 69083-000, Manaus/AM. 3 Embrapa Amazônia Ocidental, Rod. AM 010 - km 29, CP 319, CEP 69011-970, Manaus/AM. chris_lopes@bol.com.br
Palavras chave: *Aniba rosaeodora*, RAPD, PCR.

O pau-rosa tem sido explorado nas últimas décadas com o objetivo principal de obter o óleo essencial da madeira, rico em linalol, e muito utilizado na indústria de perfumaria. Essa intensa exploração predatória elevou a espécie à categoria de 'ameaçada de extinção'. Apesar disso, populações naturais ainda são encontradas nos arredores de Manaus, como na Reserva Adolpho Ducke. É objetivo deste trabalho estabelecer protocolo adequado para a técnica de RAPD-PCR e sua aplicação na caracterização genética de pau-rosa. Repetiram-se reações de PCR utilizando diferentes concentrações dos reagentes e diferentes programações para o termociclador inicialmente, com um único "primer" e DNA de uma planta e posteriormente, com outros quatro "primers" e DNA de 20 plantas. O DNA foi extraído utilizando SDS 0,5%. As reações tiveram volume final de 25 mL e concentrações finais de 50 mM de KCl, 20 mM de Tris-HCl e 0,1% de BSA. Utilizaram-se 0; 1,25; 2,50; 3,75 e 5,00 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen, 11615-010); 0; 0,75; 1,50; 2,25 e 3,00 mM de MgCl₂; 0, 15, 30, 45 e 60 ng de DNA; 0, 125, 250, 375 e 500 nM de "primer" e 0, 50, 100, 150 e 200 mM de cada dNTP. As programações testadas para o termociclador foram: ciclo I 92 °C por 2 min; 35 x (92 °C por 2 min; 30 °C por 2 min e 72 °C por 1 min); 72 °C por 3 min; 4 °C indefinidamente; ciclo II 95 °C por 5 min; 40 x (94 °C por 30 seg; 30 °C por 45 seg e 72 °C por 1 min); 72 °C por 7 min e 4 °C indefinidamente. Com o ciclo II, foram testadas apenas as variações nas concentrações de DNA, Taq e MgCl₂. O DNA amplificado foi analisado por eletroforese em géis de agarose 1,5% corado com brometo de etídio (0,5 g/ml). Para interpretação dos resultados, foram avaliados os fragmentos amplificados que apresentaram em torno de 2.000 pb, de maior intensidade e repetitividade. A melhor visualização destes tratamentos para estas bandas foi alcançada quando foram utilizados 3,75 U de Taq polimerase, 2,25 e 3,00 mM de MgCl₂, 500 nM de "primer", acima de 100 mM de cada dNTP e o ciclo I do termociclador. A concentração de DNA não influenciou a qualidade das bandas. Nos ensaios repetidos (DNA e dNTPs) os resultados foram reproduzidos com sucesso.

APOIO FINANCEIRO: Fundo Nacional do Meio Ambiente/MMA e bolsas PIBIC para a primeira autora; o segundo autor é Bolsista Internacional da Fundação Ford (Ford Foundation International Fellow).