

AValiação DO GRAU DE REPETIBILIDADE DE BANDAS RAPD EM *Aniba rosaeodora*, Ducke
Santos, Ronaldo Pereira¹; Oliveira, Cristiane Lopes de²; Cruz, Jéferson Chagas³; Quisen, Regina Caetano³; Angelo, Paula Cristina de Souza³; Barbosa, Paulo de Tarso Sampaio²

1 INPA – CPST, Av. Ephigenio Sales, s/n, V8, CEP 69060-020, Manaus/AM. 2 UFAM, Campus Universitário, Aleixo, Manaus – AM. 3 Embrapa Amazônia Ocidental, Rod. AM 010 - km 29, CP 319, CEP 69011-970, Manaus/AM.

baianorural@bol.com.br

Palavras chave: *Aniba*, RAPD, repetibilidade

O pau-rosa (*Aniba rosaeodora*, Ducke), árvore tipicamente amazônica, tem sido explorado nas últimas décadas para obter o óleo essencial da madeira, rico em linalol, e muito utilizado na indústria de perfumaria. A intensa exploração predatória elevou a espécie à categoria de 'ameaçada de extinção'. Apesar de sua importância, as características genéticas das populações naturais remanescentes são desconhecidas. Trabalhos com marcadores moleculares RAPD podem dar informações iniciais importantes para estudos de variabilidade genética nessas condições. Por outro lado, esse marcador apresenta problemas quanto a repetibilidade de suas bandas em ensaios distintos, o que compromete a confiabilidade nos resultados. São objetivos deste trabalho estabelecer qual o grau de repetibilidade das bandas RAPD em Pau – rosa. O DNA foi extraído utilizando SDS 0,5 %. Foram realizados em dois dias distintos, dois ensaios independentes envolvendo 20 diferentes amostras de DNA e dois "primers" (P1 e P2) para cada ensaio. Todas as reações tiveram volume final de 25 µl e concentrações finais de 50 mM de KCl; 20 mM de Tris-HCl; 0,1 % de BSA; 3,0 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen, 11615-010); 500 mM de MgCl₂; 30 ng de DNA; 500 nM de "primer" e 200 µM de cada dNTP. A programação no termociclador foi: 92 °C por 1 min; 35 x (92 °C por 1 min; 30 °C por 1min e 72 °C por 2 min); 72 °C por 5 min; 4 °C indefinidamente. Em cada um dos ensaios, tomou-se como critério utilizar exatamente as mesmas condições de trabalho: reagentes, pipetas, tempo de eletroforese, padrão de documentação (fotografias) e indivíduo que manipulou as amostras. Os padrões de amplificação foram analisados por eletroforese em géis de agarose 1,5 %-TBE 1 X, corado com brometo de etídio (0,5 µg/ml). As matrizes de dados binários foram construídas de maneira a permitir que os padrões de amplificação produzidos para a mesma amostra, utilizando o mesmo "primer", em diferentes ensaios, fossem comparados. Os coeficientes de similaridade foram determinados pelo método de Jaccard, utilizando o programa GENES. Para avaliar o grau de repetibilidade foi utilizada a média dos coeficientes de similaridade para os pares: amostra no ensaio 1 x amostra no ensaio 2. A repetibilidade média para o P1 foi 0,777 e para o P2 foi 0,865. Estes valores devem-se provavelmente à ausência de um critério para análise das bandas e também à necessidade de ajuste das condições de realização da PCR. A metodologia do trabalho vai ser aprimorada para que estes índices sejam elevados até valores maiores ou iguais a 0,9. Entre as medidas adotadas estará a definição de um critério para análise das bandas, com a escolha de bandas que apresentem boa repetibilidade em ensaios diferentes.

APOIO FINANCEIRO: Fundo Nacional do Meio Ambiente/MMA; o primeiro autor é mestrando em Ciências de Florestas Tropicais (INPA) e Bolsista Internacional da Fundação Ford (Ford Foundation International Fellow). A segunda autora é bolsista PIBIC.