

USO DE MARCADORES MOLECULARES RAPD NA CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA DE IPECA (*Psychotria ipecacuanha*), TIMBÓ (*Derris urucu*) E PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum*)

MOURA, Elisa Ferreira.¹ & COSTA, Maria Rosa.²

Usa-se o termo recursos genéticos para definir os componentes biológicos com uso atual ou potencial e de valor para a humanidade. Apesar da grande importância, esses recursos têm sofrido gravíssimas ameaças, já que as atividades de extrativismo, sem plano de manejo, combinadas com a devastação das áreas verdes, têm contribuído para a grande erosão genética de material vegetal. A formação de bancos de germoplasma é uma maneira de se tentar preservar a variabilidade genética de materiais biológicos, incluindo vegetal, com risco de extinção e que tem grande potencial agrônomo, comercial e/ou medicinal. A escassez de informações sobre estes materiais é um problema que deve ser resolvido e a caracterização de germoplasma torna-se necessária. Isto está evidente nas espécies vegetais medicinais e industriais como a ipeca (*Psychotria ipecacuanha*), timbó (*Derris urucu*) e a pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), cujo potencial sócio-econômico para a região Amazônica é grande. Os marcadores moleculares surgem como uma importante ferramenta na caracterização de germoplasma, já que avaliam diretamente o genótipo do indivíduo, evitando, assim, a expressão do fenótipo e a influência do ambiente sobre ele, além de ter uma abrangência maior sobre o genoma das amostras, ao contrário dos marcadores morfológicos e protéicos, que só abrangem a parte ativa (genes) do genoma. Este trabalho é considerado prioritário devido a demanda existente nos bancos de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, onde as pesquisas visam quantificar a variabilidade genética as espécies. Diversas técnicas moleculares vêm sendo desenvolvidas e pela simplicidade e rapidez, além de atender aos objetivos do trabalho, escolheu-se para a fase inicial dos trabalhos, os marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Espera-se obter a caracterização molecular das espécies trabalhadas, seus produtos e informações, que podem ser de uso tanto da comunidade científica, quanto da sociedade em geral, representada pelos produtores, indústrias e técnicos. Para a obtenção dos resultados, objetiva-se otimizar o protocolo de extração de DNA, realizar a seleção de primers e realizar o estudo da divergência genética do germoplasma das três espécies. O protocolo de extração deverá ser baseado no descrito por Doyle & Doyle, em 1990, com modificações, sempre visando a obtenção de quantidade ótima de DNA e com um mínimo de impurezas. Para a seleção de primers "screening" - serão utilizados kits de primers arbitrários, num total de 80 primers, que serão testados em quatro acessos de cada espécie. Os primers que apresentarem melhor amplificação de fragmentos e pelo menos quatro bandas polimórficas serão selecionados. Serão feitas as reações RAPD, conforme protocolo descrito por Williams e outros autores, em 1990 para a construção de matriz de dados moleculares e análise de divergência genética em acessos de ipeca, pimenta-do-reino e timbó. Para a análise dos dados, as bandas que possuírem a mesma mobilidade serão consideradas idênticas, independente de sua identidade. Bandas muito fracas, ou que ocorrerem em um só indivíduo não serão consideradas. Os fragmentos polimórficos amplificados serão computados na forma de matriz retangular binária onde o "0" representará a ausência e o "1" a presença da banda. Para as análises utilizar-se-á o programa NTSYS-ps (Numerical Taxonomy and Multivariate System). A similaridade entre as amostras será estimada mediante a utilização dos coeficientes de Jaccard e Dice.