

EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO E TESTE PRELIMINAR DE PRIMERS PARA PCR – RAPD EM *Piptocarpha angustifolia* DUSÉN – ASTERACEAE

*Amanda Dal Lin*¹
*João Antonio Pereira Fowler*²
*Daiane Rigoni Kestring*³

A identificação e a caracterização da diversidade genética em populações de plantas são obtidas através de técnicas moleculares, por meio de métodos de extração do DNA. A técnica PCR-RAPD permite que se dispense um conhecimento prévio do DNA da espécie estudada, sendo mais rápida e com menores custos. Deste modo, os estudos de quantificação da variabilidade genética intra e inter populacional, distribuição espacial dos genótipos nas populações e fragmentos florestais naturais das espécies têm o objetivo de possibilitar o planejamento das coletas de sementes com a variabilidade genética adequada, evitando que as árvores-matrizes sejam selecionadas, considerando unicamente o aspecto fenotípico, o que compromete a variabilidade genética dos lotes de sementes, comprometendo assim os plantios posteriores. As amostras de folhas para extração do DNA genômico foram coletadas de 30 árvores-matrizes de vassourão-branco, localizadas nos municípios de Colombo, Quatro Barras, Bateias e Campo Magro, no Paraná. O método utilizado na extração do DNA genômico foi uma modificação do protocolo de Cheung, Hubert e Landry (1993), realizada por Fowler (2008), onde foram utilizadas duas folhas pesando aproximadamente dois gramas, macerados em almofariz pelo pistilo, após a adição de nitrogênio líquido, em triplicata. Após o procedimento de extração, a pureza do DNA foi determinada por leitura da absorbância no espectrofotômetro. A verificação da integridade do DNA extraído foi feita por meio de eletroforese em gel de agarose 0,8 % (P/v), em corrida de 90 minutos a 100 volts. A extração do DNA genômico das folhas do vassourão-branco foi com qualidade, boa eficiência e nas quantidades necessárias para execução da técnica de PCR-RAPD. Apesar de algumas contaminações com polifenóis, resultantes da desnaturação do DNA por variação de temperatura durante o processo de extração, a pureza do DNA foi adequada e visível no gel de agarose. O método adaptado de Cheung, Hubert e Landry (1993), por Fowler (2008), apresentou a vantagem de dispensar a utilização dos reagentes como enzimas, fenol, entre outros, sem comprometer a qualidade do procedimento. O protocolo utilizado permitiu a obtenção de DNA compatível com as necessidades metodológicas, servindo de base para o estudo genético desta e de outras espécies nativas.

Palavras-chave: Genética florestal, vassourão-branco, análise molecular.

¹ Aluna do curso de Tecnologia em Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tuiuti do Paraná

² Pesquisador da *Embrapa Florestas*, fowler@cnpf.embrapa.br

³ Analista da *Embrapa Florestas*