

ESTUDO DE PROTOCOLOS ALTERNATIVOS PARA A EXTRAÇÃO DE DNA DE AMOSTRAS DE *CATTLEYA* LINDL. (ORCHIDACEAE) ARMAZENADAS EM SÍLICAPatrícia Cristina Lemos Gomes BAROM^{1,3}Elaine Lopes Pereira NUNES¹Viviane da SILVA-PEREIRA¹Claudio Nicoletti de FRAGA²Eric de Camargo SMIDT¹

Estudos genéticos em plantas exigem a obtenção de DNA de boa qualidade para a amplificação via PCR (*Polymerase chain reaction*), necessária na utilização de diferentes marcadores moleculares. DNA de espécies do gênero *Cattleya*, desidratadas em sílica-gel por mais de dois anos, apresentaram baixa qualidade devido ao estado de degradação dos tecidos foliares e à presença de polissacarídeos e compostos fenólicos. Para testar a qualidade e o nível de pureza do DNA obtido destas amostras e de amostras de folhas frescas, foram utilizados nove métodos de extração de DNA, incluindo o protocolo mais utilizado, baseado em CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) de Doyle & Doyle 1990. O DNA resultante foi avaliado em espectrofotômetro Nanodrop2000, indicando que para todos os protocolos a concentração total do produto foi maior para amostras secas do que para frescas, possivelmente devido a contaminantes que absorvem na mesma faixa de luz que ácidos nucleicos. O protocolo que gerou amostras de DNA mais limpas foi composto de tampão semelhante à do protocolo padrão, com a adição de SDS (dodecil sulfato de sódio), CTAB 10% e cloreto de sódio 5M. O DNA extraído por este protocolo e amplificado a partir de *primers* de ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) resultou em bandas mais nítidas com amostras frescas comparado ao protocolo padrão, assim como o método que variou as concentrações dos reagentes do tampão. Porém, para a amplificação de regiões específicas de sequências nucleotídicas de cpDNA o método de extração mais eficiente incluiu SDS 20%, NaCl 5M, acetato de sódio e acetato de potássio, sendo o único protocolo igualmente eficiente para folhas frescas e em sílica. Os resultados obtidos indicam que, para a espécie testada, o método de armazenamento das amostras após a coleta e a escolha do protocolo de extração adequado é fundamental para sucesso de preservação e aplicação de marcadores moleculares.

Palavras-chave: Banco de DNA, extração, Orchidaceae, sílica gel.

¹ MCT/CNPq Universal 014/2009. Universidade Federal do Paraná – UFPR

² CENPES-Petrobras. Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro

³ cristinalg@pop.com.br