Seção: Genética

ADAPTAÇÃO DE PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA DE *Calyptranthes clusiifolia* (Miq.) O. Berg (Myrtaceae) PARA ESTUDOS DE DIVERSIDADE GENÉTICA

Jaqueline Fidelis DUARTE (1, 2)
Luiz Eduardo SILVA (2)
Isaías Emílio Paulino do CARMO (2)
Rute Maria RIBEIRO (3)
Dulcinéia de CARVALHO (2)

A diversidade genética em populações arbóreas pode ser reflexo da influência tanto de características ambientais como da própria espécie, e seu estudo auxilia na manutenção da variabilidade assegurando práticas realmente efetivas de conservação. A caracterização desta variabilidade por meio de técnicas moleculares requer que o método de extração do DNA seja rápido e preciso, obtenha máximo rendimento e produza um DNA de qualidade suficiente para que não ocorra interferência nos padrões de eletroforese em gel. Diversos protocolos de extração podem ser encontrados em literatura, porém, o mais utilizado é o CTAB 2X (Brometo de Cetiltrimetilamônio) que apresenta algumas modificações de acordo com as particularidades de cada espécie. Assim, o objetivo deste estudo foi ajustar o protocolo CTAB para a obtenção de material genético de boa qualidade da espécie arbórea *Calyptranthes clusiifolia*. Folhas de 6 indivíduos de *C. clusiifolia* foram coletadas em fragmento de floresta estacional semidecidual localizado no campus da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais e foram mantidas em freezer (-20°C) até o momento das extrações. As etapas do Protocolo CTAB foram realizadas diferenciando em 16 tratamentos: concentração de 0, 0,2, 0,5 e 1% de beta-mercaptoetanol e do tempo de precipitação do DNA em isopropanol gelado 1, 6, 12 e 24h. A concentração do DNA extraído foi determinada em eletroforese em gel de agarose 1,5% por meio da comparação com o lambda DNA com as concentrações 50, 100, 200 e 300 ng/µl. Além disso, a integridade do DNA também foi avaliada por eletroforese a partir dos produtos obtidos da amplificação em PCR com o *primer* Manny. A concentração de DNA de *C. clusiifolia* obtida foi de 50 ng/µL em todos os tratamentos, exceto 10 e 13 que apresentaram uma faixa de 50-100 ng de DNA/µL e o tratamento 4 onde a presença de DNA não foi verificada. Quanto aos fragmentos de DNA amplificados, os tratamentos 1, 2, 7, 9, 12, 13, 14 e 15 apresentaram qualidade e integridade satisfatória de DNA. Ao comparar os dois resultados, foi verificado que o tratamento 13 esteve presente em ambos, deste modo recomenda-se o uso do protocolo de extração de DNA de acordo com as modificações realizadas neste tratamento, ou seja, não é necessário utilizar beta-mercaptoetanol e, durante a precipitação do DNA, deixar as amostras em freezer durante 24 horas.

Palavras-chave: protocolo CTAB 2X, Beta-mercaptoetanol, tempo de precipitação

Créditos de Financiamento: FAPEMIG, CAPES

(1) Universidade Federal de Lavras - UFLA - Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 – Lavras, MG. jaquefdbio@hotmail.com
(2) Departamento de Ciências Florestais - UFLA
(3) Departamento de Biologia- Setor de Ecologia - UFLA