

AValiação de Protocolos de Extração de DNA e de Marcadores Moleculares para a Espécie *Tarenaya spinosa*

Jhennifer M. L. D'ávila; Anna Flávia R. M. Vilardo; Lívia S. Cordeiro;
Gustavo D. S. Lima; Norma Albarello; Claudia Simões-Gurgel

Laboratório de Biotecnologia de Plantas (Labplan); Núcleo de Biotecnologia Vegetal (NBV); Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes (IBRAG); Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

E-mail do autor apresentador: jhennifer.martins@outlook.com

Tarenaya spinosa (Jacq.) Raf. (Cleomaceae), popularmente conhecida como mussambê-de-espinho, é uma espécie subarbusciva muito utilizada na medicina tradicional para tratar doenças respiratórias e processos inflamatórios. Com ampla distribuição no Brasil e no mundo, a espécie geralmente habita margens de rios ou áreas urbanas, as quais estão sujeitas a intenso impacto antrópico, o que pode levar ao desaparecimento de algumas populações. Estudos biotecnológicos vêm sendo realizados, aplicando técnicas de cultura de tecidos vegetais, de forma a garantir o estabelecimento e conservação *in vitro* da espécie, bem como a exploração de substâncias de interesse medicinal e econômico. Entretanto, durante o cultivo *in vitro*, alguns fatores podem induzir alterações genéticas ou epigenéticas, conhecidas como variações somaclonais. O monitoramento da estabilidade genética constitui uma importante etapa na conservação *in vitro*, podendo ser realizado usando marcadores moleculares. Este estudo objetivou a avaliação de protocolos de extração de DNA e a seleção de *primers* das técnicas de marcadores moleculares SCoT (*Start Codon Targeted*) e ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), visando à investigação acerca da estabilidade genética de plantas estabelecidas *in vitro* da espécie *T. spinosa*. Plantas *in vitro* mantidas em meio de cultura MS0 foram utilizadas como fonte de material para o estudo. As amostras de DNA foram extraídas a partir das folhas pelos métodos CTAB, SDS e CTAB modificado (com etapa de purificação usando alta concentração de NaCl). Foram testados 15 *primers* da técnica SCoT e 17 da ISSR. Nas reações de PCR foram avaliadas duas concentrações da enzima Taq DNA polimerase (Taq) (1,5 U e 2,5 U), além de diferentes temperaturas de anelamento (T_a): 48, 50 e 52 °C (SCoT) ou 40, 42, 45 e 48 °C (ISSR). O método CTAB modificado permitiu a obtenção de maior quantidade (25 ng/ μ L) e qualidade de DNA. Nas reações de PCR, nas técnicas SCoT e ISSR, a concentração de 2,5 U de Taq possibilitou a formação de bandas mais nítidas. A T_a de 48°C se mostrou mais eficaz para os *primers* SCoT, totalizando 106 bandas nítidas e contáveis. Para a técnica ISSR, a T_a de 45°C resultou em um total de 118 bandas. Os resultados demonstram que os marcadores moleculares obtidos pelas técnicas SCoT e ISSR podem ser ferramentas eficientes para a avaliação da estabilidade genética de plantas de *T. spinosa* cultivadas *in vitro*.

Palavras-chave: Conservação *in vitro*; ISSR; SCoT

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERJ.