



AMPLIAÇÃO DO BANCO DE DNA DA COLEÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS CPMA VISANDO AVALIAÇÃO DOS GERMOPLASMAS MANTIDOS EM COLEÇÃO



Matheus Coimbra Pires de Lima – matheus-cpl@hotmail.com

Dra. Glyn Mara Figueira – glynmara@gmail.com

CNPq

Palavras-Chave

Extração de DNA

Banco de

germoplasma

Plantas medicinais e aromáticas

Introdução

A Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas – CPMA, está localizada no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da Universidade de Campinas - UNICAMP, contém aproximadamente 2.000 acessos, de 78 famílias de plantas medicinais e aromáticas, na forma de cultivo contínuo em campo, sementes, cultura de tecidos e banco de DNA. A CPMA possui ainda coleções de indivíduos adultos formando bancos de germoplasma de várias espécies, com populações derivadas de diferentes procedências.

Essa avaliação permite identificar se todos os indivíduos presentes nos bancos de germoplasma são diferentes ou se existem repetições. Para essas avaliações é necessário que haja DNA extraído, armazenado e quantificado para as reações seguintes. Portanto o objetivo deste projeto é a extração, quantificação e o armazenamento no BAG(Banco de Amostra Germoplasma) destes DNAs.

Metodologia

- 1) Moagem de 150 mg de folhas secas em N2 líquido.
- 2) Transferir para um tubo de 15 ml contendo 5 ml de tampão MATAB de extração pré-aquecido a 74 °C.
- 3) Vortex 10 segundos.
- 4) Incubar 20 minutos a 74 °C, agitando de vez em quando.
- 5) Esperar temperatura ambiente, adicionar 5 ml de CIAA, agitar por inversão (100 vezes).
- 6) Centrifugar 15 minutos.
- 7) Transferir a fase aquosa para novos tubos de 15 ml.
- 8) Adicionar 5 ml de isopropanol (lentamente).
- 9) Agitar suavemente até a formação do sedimento de DNA, ou centrifugue se necessário.
- 10) Colocar 400 µL de Tampão TE

Após a extração do DNA fez-se a eletroforese em gel de agarose, que consiste em um método usado para separar, identificar, caracterizar e purificar fragmentos de DNA. Nesta etapa ele é feito para verificar a quantidade e a qualidade do DNA, para poder ser armazenado.

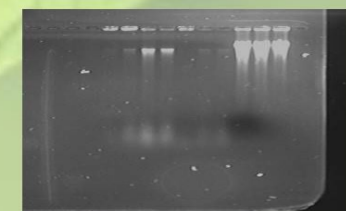


Foto Gel: 1ª, 2ª, e 3ª coluna (direita para a esquerda) é λ, demais colunas corrimto do DNA

Resultados e Discussão

Foram obtidas 60 amostras de DNA da espécie *Maytenus ilicifolia*, 56 amostras de DNA das famílias *Lamiaceae*, *Piperaceae*, *Asteraceae* e a extração e quantificação destas; ampliando o banco de DNA do CPMA. Disponibilização de DNA armazenado no banco de DNA para futura avaliação do DNA e organização do banco de germoplasma da espécie de *Maytenus ilicifolia* a fim de disponibilizá-lo a análise da diversidade genética dos acessos com os marcadores SSR. Também foi obtida a experiência em diferentes métodos de extração de DNA e quantificação de DNA, o contato com o banco de dados do CPQBA.

Conclusões

Conclui-se que no período que estive no laboratório de Agrotecnologia do CPQBA, foi adquirido o conhecimento em extração de DNA e todo o seu processo, o conhecimento de coleta de matérias para a extração e quantificação dos DNAs. Portanto o objetivo foi atingido com a extração, quantificação e armazenamento na coleção de 60 indivíduos de *Maytenus ilicifolia*, 24 espécies da família *Lamiaceae*, 11 espécies da família *Piperaceae* e 21 espécies da família *Asteraceae*.

Referências Bibliográficas

BERG, C.V.D., Bancos de DNA de Plantas. Universidade Estadual de Feira de Santana. Acessado em set. 2007 <http://www.cria.org.br/cgee/documentos/NotaTecnicaBancosdeDNA22-04-05.doc>

FERREIRA, M. E.; Grattapaglia, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Embrapa, terceira edição, 220 p., 1998.



Metodologia 1



Metodologia 2



Metodologia 3



Metodologia 4



Metodologia 5



Metodologia 6



Metodologia 7



Metodologia 7 e 8



Metodologia 10



Espécies de *Maytenus ilicifolia*



Espécie de *Maytenus ilicifolia*