

COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO DE *Ocotea odorifera* (Vell.) ROHWER.

Luigi Da Cas¹, Thiely Corazza², Lucas da Luz³, Adelar Mantovani⁴

¹Acadêmico do Curso de Engenharia Florestal - CAV - bolsista PROBIC/UDESC.

²Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal - CAV.

³Acadêmicos do Curso de Graduação em Engenharia Florestal – CAV.

⁴Orientador, Departamento de Engenharia Florestal - CAV – adelar.mantovani@udesc.br.

Palavras-chave: Floresta Estacional Semidecidual. Canela-sassafrás. Protocolo de extração de DNA.

Ocotea odorifera (Vell.) Rohwer (canela-sassafrás) pertence à família Lauraceae, e é conhecida pela qualidade de sua madeira na marcenaria e na construção civil, além do alto teor de safrol (óleo essencial) utilizado para diversos fins. Devido à intensa exploração ocorrida no passado, encontra-se incluída na lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção, na categoria vulnerável. Tratando-se de uma espécie ameaçada de extinção, o estudo da estrutura e diversidade genética de populações pode contribuir para conhecimento do comportamento reprodutivo e fluxo gênico da espécie. Para isso, a otimização e o estabelecimento de métodos de extração de DNA são essenciais, tendo em vista que um bom protocolo de extração deve produzir DNA com pureza e concentração satisfatórias para a utilização em trabalhos desta natureza. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a eficiência de dois diferentes protocolos de extração de DNA genômico para *Ocotea odorifera*. A coleta de material foliar foi realizada na Floresta Estadual Semidecidual, em uma área de ocorrência natural de canela-sassafrás, localizada no município de Concórdia - Santa Catarina, com coordenadas médias entre 27°17'18.3"S e 52°05'35.1"W, a uma altitude de 578 m. A coleta de material foliar foi realizada em um remanescente florestal com aproximadamente cinco hectares, no qual 30 indivíduos adultos (em fase reprodutiva) foram marcados e georreferenciados. As amostras de material foliar foram armazenadas em um ultrafreezer a -80°C para posterior extração de DNA. Para a extração do DNA genômico, foram utilizados dois protocolos, a fim de verificar qual seria mais eficiente para a espécie: um adaptado de Mazza e Bittencourt (2000) e outro descrito por Mega e Revers (2011). Aproximadamente 0,5 g de tecido vegetal de cada indivíduo coletado foram macerados com o auxílio de um extrator (Precellys Evolution), em seguida, foram aplicados os dois protocolos de extração. No protocolo de Mega e Revers (2011) foram feitos testes com e sem a adição do polímero PVPP (polivinilpolipirrolidona) na solução de extração, para analisar se a utilização de PVPP aumentaria a relação de fenóis na quantificação do DNA. Por fim, estimou-se a quantidade de DNA através de espectrofotometria, assumindo uma solução de quantificação de 50 µl, sendo 5 µl de DNA e 45µl de água ultrapura. Entre os protocolos testados foram encontradas diferenças significativas em relação à concentração de DNA. Quanto à pureza, a média dos resultados ficou dentro do desejado para os dois protocolos. Para o método adaptado de Mazza e Bittencourt (2000) a maior quantidade foi de 42 ng/µl, seguido de oito amostras com concentração acima de 20 ng/µl, 19 amostras na faixa entre 20 ng/µl e 10 ng/µl, e duas amostras

com concentração inferior a 10 ng/μl. O menor resultado foi de 3 ng/μl. A média para esse método de extração foi de 18,2 ng/μl. A razão A260/A280 situou-se acima de 1,70 em 83,3% das amostras e, destas, 3,4% estiveram acima de 1,50 e 13,3% abaixo de 1,50, com média de 2,17. Já o método de Mega e Revers (2011) apresentou todas as amostras acima de 20 ng/μl, sendo o maior valor em 865 ng/μl e média de 174 ng/μl. A média da razão A260/A280 para esse método foi 1,86. Isso indica que, para os dois métodos, houve baixa contaminação com polifenóis, polissacarídeos e proteínas, demonstrando, assim, que a pureza do DNA obtido foi satisfatória. A adição do polímero PVPP não apresentou bons resultados, sendo menos eficiente que o protocolo sem a presença do mesmo. Desta forma, conclui-se que o protocolo de Mega e Revers (2011) é o método mais eficiente para a extração de DNA genômico de *Ocotea odorifera*.

Referências

- MAZZA, M.C.M.; BITTENCOURT, J.V. Extração de DNA de tecido de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 41, p.12-17, 2000.
- MEGA, N. O.; REVERS, L. F. Desenvolvimento de um método rápido, eficiente e de baixo custo para a extração de DNA de artrópodos. **Ciência Rural (UFSC)**, v. 41, p. 1563-1670, 2011.