

EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO DE *Stylosanthes guianensis* PARA ANÁLISES MOLECULARES

Valle, J. V. R. do (1); Chiari, L. (2); Resende, R. M. S. (3); Jungmann, L. (3); Salgado, L. R. (1); Leguizamon, G. O. C. (4). (1) Bolsista de Iniciação Científica, PIBIC, CNPq/Embrapa, joavictor@cnpqc.embrapa.br. (2) Bolsista DCR. (3) Pesquisadora, Embrapa Gado de Corte. (4) Laboratorista, Embrapa Gado de Corte.

Em *Stylosanthes guianensis* os problemas mais freqüentemente ligados ao isolamento de DNA de qualidade surgem devido à contaminação por fenóis e polissacarídeos, que se apresentam em elevado nível em suas folhas. Os polissacarídeos são inibidores potenciais da endonuclease *Hind* III e podem inibir a atividade da *Taq* DNA polimerase. Estas contaminações geralmente deturpam os resultados da PCR levando a interpretações erradas. Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a quantidade e qualidade de DNA extraído de folhas *S. guianensis*, utilizando-se de três protocolos baseados no CTAB padrão. Procedeu-se à extração a partir de 300mg de folhas jovens frescas de três acessos de *S. guianensis*, coletadas invariavelmente no mesmo estágio de desenvolvimento. Os DNAs extraídos foram quantificados em espectrofotômetro e a relação de absorbância A_{260}/A_{280} foi determinada para verificar a contaminação por proteínas. Foram ainda submetidos à eletroforese em gel de agarose 0,8% para verificar a integridade das bandas. A endonuclease *Hind* III foi utilizada para verificar a capacidade de restrição dos DNAs isolados. Por último, os DNAs foram amplificados pela técnica de RAPD com dois *primers* randômicos (J16 e L7). Os três métodos forneceram DNA em quantidade satisfatória para serem utilizados em várias técnicas moleculares, variando de 45 a 127 μ g DNA/g de tecido foliar fresco. A relação de absorbância A_{260}/A_{280} foi aproximadamente 1,5 em todas as amostras denotando baixa contaminação por proteínas, no entanto os DNAs isolados pelo protocolo 3 foram menos viscosos, indicando menor contaminação por polissacarídeos. Foram obtidas amostras íntegras de DNA pelos três métodos para os três acessos avaliados e estes foram digeridos pela endonuclease testada. De modo geral, o DNA isolado pelos três métodos apresentou boa qualidade para ser utilizado em análises de RAPD, amplificando com os dois *primers* testados. (Projeto financiado pela Embrapa, CNPq, FUNDECT e UNIPASTO).