

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
**Embrapa Amazônia Ocidental**  
Rodovia AM 010, Km 29, Caixa Postal 319, CEP 69010-970  
Fone (92) 3303-7800 Fax (92) 3303-7820, Manaus, AM  
<http://www.embrapa.br/sac/>  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**Fotos**

Ronaldo Pereira Santos

Larissa A. C. Moraes

HYPERLINK <http://www.mobot.org> [www.mobotpm.org](http://www.mobotpm.org)

Tiragem: 1.000 exemplares

CGPE 12702

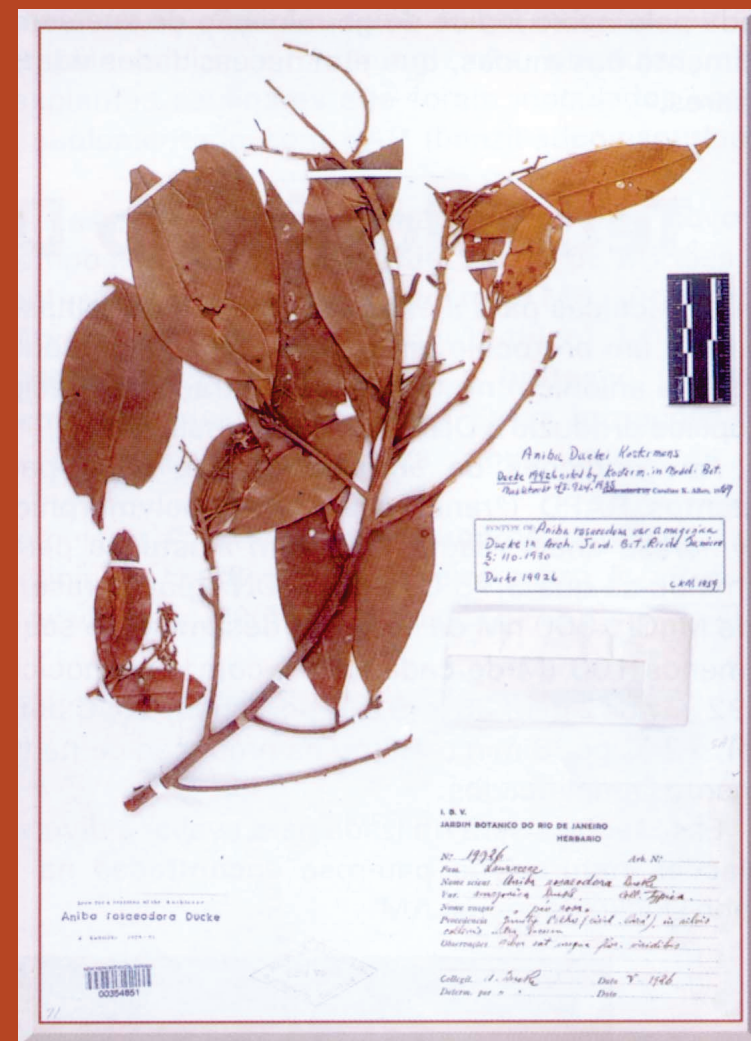


Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



BIOTECNOLOGIA DO

# PAU-ROSA



Amazônia Ocidental

Manaus - AM  
Setembro - 2003

# Introdução

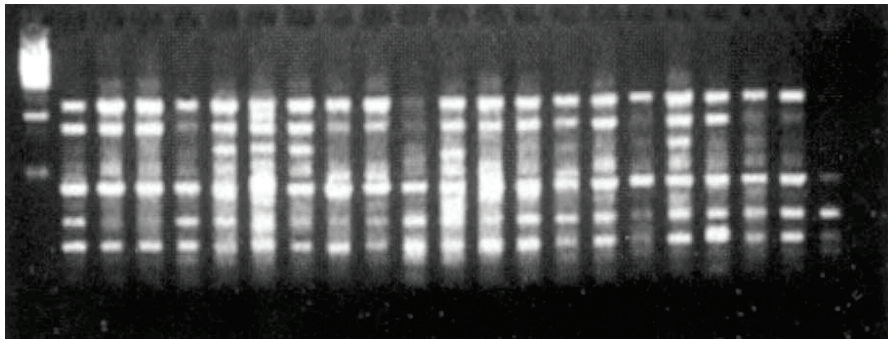
O pau-rosa é uma espécie em extinção cuja propagação é limitada pelo baixo índice de germinação de sua semente e pelo lento crescimento das mudas, que têm necessidades edafoclimáticas muito peculiares.

## Tecnologia do DNA

Algumas técnicas para a extração de DNA de folhas da espécie foram testadas e um protocolo em que se utiliza SDS (sódio dodecil sulfato, detergente aniônico) no tampão de extração e precipitação por álcool isopropílico produziu o DNA de melhor qualidade.

As condições de amplificação do DNA para a geração de fragmentos RAPD ("random amplified polymorphic DNA") via PCR ("polymerase chain reaction") foram ajustadas para o Laboratório e determinou-se que 3,75 U de Taq DNA polimerase, pelo menos 2,25 mM de  $MgCl_2$ , 500 nM de "primer" decâmero de seqüência arbitrária e pelo menos 100  $\mu$ M de cada DNTP, com o termociclador programado para 92°C por 2 min; 35 x (92°C por 2 min; 30°C por 2 min e 72°C por 1 min); 72°C por 3 min resultou na produção de padrões aceitáveis de fragmentos amplificados.

Essa técnica será utilizada para avaliar a diversidade genética de populações naturais de pau-rosa encontradas na Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, AM.



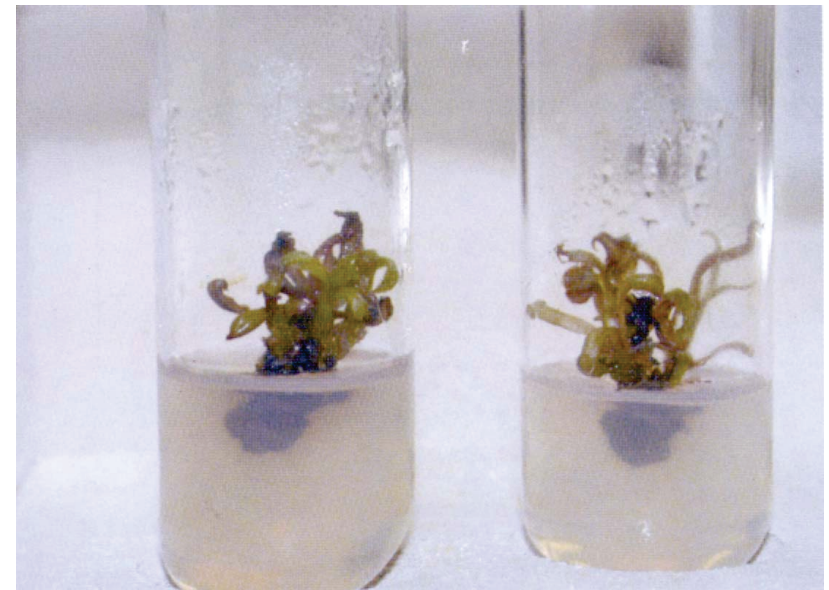
Gei de eletroforese de fragmentos RAPD.

# Cultura de Tecidos

Inicialmente embriões zigóticos foram retirados das sementes previamente desinfestadas e germinados em meio nutritivo MS (Murashige e Skoog). As plântulas obtidas forneceram explantes caulinares que foram inoculados em meio nutritivo MS suplementado com BAP (benzil-adeninapurina) 2,0 mg L<sup>-1</sup>.

Após sucessivos subcultivos, transplântio para novo meio de mesma composição, com espaço de tempo de 30 dias entre eles, os explantes foram transferidos para meio MS, suplementado com BAP 2,0 mg L<sup>-1</sup> e AIB (ácido indoi butírico) 1,0 mg L<sup>-1</sup>. A composição desse novo meio induziu a brotação lateral dos explantes, permitindo sua multiplicação. Essas brotações foram subdivididas e transplantadas para novo meio de igual composição.

Para completar o protocolo de micropropagação para o pau-rosa resta definir as condições de enraizamento *in vitro* e de aclimação *ex vitro* das plântulas obtidas.



Brotações laterais *in vitro* de explantes caulinares de pau-rosa.