

DESENVOLVIMENTO DE *LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION* PARA DETECÇÃO DE FEIJÃO TRANSGÊNICO VISUALMENTE INTERPRETADA PELA ADIÇÃO DE CORANTES INDICADORES DE pH

N. C. TEIXEIRA^{1,2}; A. WENDLAND¹, L. T. DUARTE¹; M. I. S. OLIVEIRA¹; T. L. P. O. SOUZA¹; J. C. FARIA¹; M. V. B. CÔRTEZ¹.

¹Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Unidade Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Brasil, ²Universidade Federal de Goiás (UFG), Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), 746050-050 Goiânia, Brasil.

E-mail: adriane.wendland@embrapa.br

O mosaico dourado causado pelo *Bean Golden Mosaic Virus* (BGMV) é a principal virose do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). A incidência do vírus contribui significativamente para a baixa produtividade do grão, com perdas entre 40 a 100%. Diante disso, a Embrapa desenvolveu recentemente, a primeira cultivar transgênica com efetiva resistência ao BGMV. A BRS FC401RMD é resultante da inserção de um evento transgênico em cultivar do grupo carioca, e não apresenta variações fenotípicas em relação a cultivar de origem. Com o objetivo de diferenciá-la das cultivares convencionais de uma forma prática, rápida, segura, de baixo custo e de fácil interpretação foi desenvolvido um kit de detecção de feijão transgênico por meio de *Loop-mediated Isothermal Amplification* (LAMP) com adição de corantes indicadores de pH. Para adequação à praticidade da metodologia LAMP, foram realizados ajustes no método de extração de DNA e redução de algumas etapas, em que folhas e sementes foram maceradas manualmente, tamponadas e inseridas ao mix da reação LAMP. Foi estabelecido um conjunto de *primers* específicos para detecção da região transformada e otimizada quanto à concentração de seu uso, temperatura e tempo mínimo de amplificação. As reações foram conduzidas em aparelho com temperatura controlada sob temperatura constante. A interpretação visual direta dos produtos amplificados foi facilitada pela adição de corantes indicadores *Cresol Red*, *Neutral Red* e *Phenol Red*. A metodologia de amplificação molecular isotérmica desenvolvida neste estudo reduziu significativamente o tempo e o custo para detecção de BRS FC401RMD, devido à exclusão do uso de termocicladores, cubas de eletroforese, géis de agarose e fotodocumentadores. A adição dos corantes indicadores de pH ao mix de reação facilitou a interpretação visual direta dos testes moleculares e simplificou a detecção do evento em plantas e sementes sob condições de baixa tecnologia. A disponibilização do kit LAMP oferece versatilidade e suporte tecnológico para o reconhecimento e diferenciação das linhagens transgênicas resistentes ao BGMV em ambientes como laboratórios, armazéns e cooperativas modestamente equipadas.

Palavras-chave: Mosaico Dourado; LAMP; BGMV.

Agradecimentos: CNPq, FAPEG e Embrapa pelos financiamento da bolsa e projeto.