

Desenvolvimento de Marcadores para Sete Genes Superexpressos em Arroz Geneticamente Modificado⁽¹⁾

Helena Beatriz da Silva Mota², Rosana Pereira Vianello³, Paula Arielle Mendes Ribeiro Valdisser⁴ e Claudio Brondani⁵

¹ Pesquisa financiada pela Embrapa e CNPq.

² Graduada em Agronomia do IF Goiano - Campus Morrinhos, estagiária da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

³ Bióloga, doutora em Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

⁴ Bióloga, mestre em Biologia Molecular, analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

⁵ Engenheiro-agrônomo, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

Resumo - O desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas (GM) permite obter genótipos superiores a partir da superexpressão ou alteração de genes relacionados a caracteres de interesse. O objetivo deste trabalho foi desenvolver marcadores moleculares específicos para sete genes superexpressos em arroz, visando monitorar a presença nas plantas ao longo do avanço de geração e, futuramente, em plantas derivadas de cruzamentos entre as plantas transformadas. Os marcadores foram desenvolvidos para os genes CPK, PLD, Cesa, AVP, rbcL, TOR e GLUR, onde a sequência *forward* (F) anela na sequência promotora, e a *reverse* (R) na sequência do gene de interesse. Amostras de folhas das plantas GM para cada gene foram coletadas e o DNA extraído pelo método CTAB. Reações de PCR para amplificação dos fragmentos específicos foram realizadas avaliando 108 combinações de primers (F+R) específicos para cada gene transformado (CPK = 18; PLD = 12; Cesa = 12; AVP = 12; rbcL = 24; TOR = 18 e GLUR = 12). Diferentes temperaturas de anelamento (N) foram avaliadas em termociclador, e o perfil da amplificação: 95 °C por 15 min (desnaturação inicial); 40 ciclos de 94 °C por 30 s, N °C por 90 s, 72 °C por 1 min (extensão do fragmento); e, por fim, 72 °C por 10 min (extensão final). Os fragmentos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%. As temperaturas otimizadas variaram de 56 °C a 60 °C, enquanto o tamanho do fragmento variou de 110 pares de base (pb) a 926 pb. Com a validação desses marcadores, plantas GM para os sete genes serão precisamente identificadas e monitoradas.