

SP 3790  
P. 133

### C 3

## Validação Dos Genes da $\omega$ -gliadina e da Glutenina como Referências Endógenas para a Detecção e Quantificação e Resíduos de Transgênicos em Trigo (*Triticum Aestivum*).

Mariana Santos Cardoso<sup>1</sup>; Francismar Corrêa Marcelino<sup>2</sup>; Everaldo Gonçalves de Barros<sup>3</sup>.  
Universidade Federal de Viçosa/Bioagro/Laboratório de Seqüenciamento e Clonagem de DNA. Campus da UFV,  
s/n - Viçosa (MG) - CEP: 36570-000. E-mail: mscardoso27@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Soja/Núcleo de Biotecnologia. Rodovia Carlos João  
Strass - Distrito de Warta - Londrina (PR) - CEP: 86001-970. E-mail: francm@cnpso.embrapa.br.

<sup>3</sup>Universidade Federal de Viçosa/Bioagro/Laboratório de Biologia Molecular d

As técnicas de PCR qualitativo e quantitativo são muito utilizadas para detecção e quantificação de organismos geneticamente modificados (OGMs), tanto in natura como em alimentos processados. No entanto, para garantir maior confiabilidade dos resultados é necessária a amplificação de uma seqüência espécie-específica juntamente com o alvo transgênico, permitindo assim a verificação da qualidade do DNA nas análises de PCR qualitativo e possibilitando a quantificação relativa da seqüência transgênica nas análises de PCR quantitativo. Para ser utilizado como referência endógena, o gene deve ser espécie-específico, apresentar baixa variação alélica e baixo número de cópias no genoma. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo a validação dos genes da  $\omega$ -gliadina e da glutenina para serem utilizados como referências endógenas em análises de detecção e quantificação de trigo transgênico por PCR. Após a determinação das condições ideais de PCR convencional e em tempo real para cada par de primers, pôde-se verificar a amplificação de um fragmento esperado de 181 pb para a  $\omega$ -gliadina e de 67 pb para a glutenina. Para testar a especificidade dos genes, DNA de diferentes espécies de cereais (arroz, aveia, cevada e milho) e de dicotiledôneas (algodão, batata, beterraba, cenoura, soja e tomate) foram amplificadas com primers específicos para os genes. Apenas o DNA do trigo gerou produto de amplificação para ambos os ensaios. A baixa variação alélica foi determinada pela amplificação desses genes em oito diferentes variedades de trigo. Os produtos do PCR para cada ensaio apresentaram tamanhos idênticos e intensidades semelhantes, indicando que não há diferenças relevantes na região amplificada entre as variedades analisadas. As sensibilidades de amplificação dos genes da  $\omega$ -gliadina e da glutenina foram determinadas pela identificação da menor quantidade de DNA de trigo necessária para que a região alvo fosse amplificada. Foram testadas as quantidades de 400 a 0,002 pg de DNA. A região alvo de cada gene foi amplificada até a adição de pelo menos 2 ng de DNA de trigo no PCR qualitativo e 0,2 ng no PCR quantitativo, o que corresponde a aproximadamente 100 e 10 cópias do genoma, respectivamente. Esses resultados demonstram que tanto o gene da  $\omega$ -gliadina, como o da glutenina, apresentam um grande potencial de uso como referência endógena para análises de detecção e quantificação de trigo transgênico. (FAPEMIG)

### C 4

## Panorama Nacional da Presença de Resíduos Transgênicos em Grãos, Produtos In Natura e Alimentos Processados.

M.R. Pereira<sup>1</sup>; F.C. Marcelino<sup>2</sup>; M.F.M. Guimarães<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Agrogenética (Laboratório de Análises Genéticas) - Avenida Olívia de Castro Almeida, 273, Loja 1C, Bairro Clélia Bernardes, Viçosa (MG) - CEP: 36570-000. E-mail: mateus@agrogenetica.com.br

<sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Soja/Núcleo de Biotecnologia. Rodovia Carlos João Strass - Distrito de Warta - Londrina (PR) - CEP: 86001-970. E-mail: francm@cnpso.embrapa.br.

<sup>3</sup>Embrapa Gado de Leite - Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco, Juiz de Fora (MG) - CEP 36038-330. E-mail: mmartins@cnppl.embrapa.br e-mail: agrogenetica@agrogenetica.com.br

Um dos principais produtos derivados da biotecnologia são os organismos geneticamente modificados (OGM). O cultivo e o comércio de OGMs têm crescido em larga escala no mundo e inclusive no Brasil. Essa ampliação mundial das culturas geneticamente modificadas (GM) gerou um aumento na presença de resíduos transgênicos em alimentos, que passaram a ser consumidos sem o conhecimento prévio do consumidor. Desta

SP 3790  
P. 133



forma, questões referentes ao direito de informação da origem transgênica dos produtos tornaram-se relevantes. No Brasil, a rotulagem é obrigatória para produtos embalados, a granel ou in natura, que contenham ou que sejam produzidos de OGMs, a partir do limite de 1,0% do produto final, conforme determina o Decreto Nº 4.680 de 25 de abril de 2003. Este tipo de exigência requer o uso de metodologias viáveis para a detecção e quantificação de transgênicos em grãos e produtos processados. Este trabalho tem como objetivo relatar o panorama da presença de resíduos de OGM de 4.434 amostras de produtos alimentícios analisados entre os anos de 2000 e 2006 em uma empresa credenciada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. As amostras foram analisadas pela técnica de PCR usando primers específicos que amplificam o DNA endógeno e o geneticamente modificado. A quantificação foi realizada pela técnica do PCR em tempo real. Até 2003, as análises concentraram-se em amostras de grãos, rações e em diferentes tipos de preparações protéicas de soja. Em 2004, ano posterior à publicação do decreto de rotulagem, a demanda pela análise de produtos processados alcançou mais que 50% do total de produtos analisados no ano. Esta tendência permaneceu pelos anos de 2005 e 2006. Com relação ao percentual de resultados positivos, em 2000, apenas 5% do total das amostras analisadas foram positivas para a presença de resíduos de OGMs. Em 2001, esse percentual subiu para 11,5%, em 2002 para 28,5% e 2003 para 32,3%. Em 2004, houve uma redução deste percentual para 25,7%, que se repetiu em 2005, para 24,37%, e por fim, uma queda brusca deste valor em 2006, em que apenas 7,35% das amostras eram OGM positivas. Produtos contendo resíduos transgênicos estão presentes em amostras de alimentos consumidos no Brasil, pelo menos desde o ano de 2000. A presença de resíduos transgênicos foi detectada nas três diferentes categorias de produtos analisados: grãos, in natura e processados.

## C 5

### **Detection and Quantification of Roundup Ready<sup>®</sup> soybean residues in sausage samples by conventional and Real-Time PCR**

Francismar C. MARCELINO <sup>a,b,c</sup>, Everaldo G. de BARROS <sup>b,d</sup>, Marta F. M. GUIMARÃES <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> AgroGenética, <sup>b</sup> Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária,

<sup>c</sup> Embrapa Soja, <sup>d</sup> Department of General Biology, Federal University of Viçosa,

<sup>e</sup> Embrapa Gado de Leite, Brazil

The increasing presence of products derived from genetically modified (GM) plants in human and animal diets has led to the development of detection methods to distinguish biotechnology-derived foods from the conventional ones. The conventional and real-time PCR have been used, respectively, to detect and quantify GM residues in highly processed foods. DNA extraction is a critical step during the analysis process. Some factors such as DNA degradation, matrix effects, and presence of PCR inhibitors imply that a detection or quantification limit, established for a given method, is restricted to a matrix used during validation and cannot be projected to any other matrix outside the scope of the method. In Brazil, sausage samples were the main class of processed products in which Roundup Ready<sup>®</sup> (RR) soybean residues were detected. Thus, the validation of methodologies for detection and quantification of these residues is urgent. Sausage samples were submitted to two different methods of DNA extraction: modified Wizard and the CTAB method. The yield and quality of DNA were compared for both methods. DNA samples were analyzed by conventional and real-time PCR for detection and quantification of Roundup Ready<sup>®</sup> soybean in the samples. At least 200 ng of total sausage DNA was necessary for a reliable quantification. Reactions containing DNA amounts below this value led to large variations on the expected GM percentage value. In conventional PCR the detection limit varied from 1.0 to 500 ng, depending on the GM soybean content in the sample. The precision, performance and linearity of what relatively high, indicating that the method used for analysis was satisfactory.

Congresso  
Brasileiro de  
Biossegurança

*Brazilian  
Biosafety  
Congress*

V

Simpósio  
Latino-Americano  
de Produtos Transgênicos

*Latin American  
Symposium on  
Transgenic Products*

Seminário de Bioenergia das Nações Unidas  
*United Nations University Bioenergy Seminar*

---

Ouro Preto, Setembro 18-21, 2007

---

Anais dos Eventos  
*Proceedings of meetings*