

Seleção de genes-referência para estudos de expressão gênica utilizando PCR quantitativa em macieiras

Pâmela Perini¹; Giancarlo Pasquali²; Márcia Margis-Pinheiro³; Luís Fernando Revers⁴

A macieira (*Malus x domestica*) é uma das mais importantes frutíferas do mundo, e sua produção tem destaque na Região Sul do Brasil. Comparações entre padrões de expressão gênica de diferentes variedades constituem uma estratégia de alto valor científico aplicável ao melhoramento genético. Contudo, a acurácia na avaliação é dependente de genes de referência estáveis para a normalização dos dados, validados anteriormente à análise das amostras. A escolha de controles inapropriados pode resultar em declarações estatísticas indevidas e caracterizações ou conclusões incorretas. Pelo presente trabalho, tem-se o objetivo de selecionar os melhores genes a serem usados como referências para estudos de expressão gênica em macieiras via PCR quantitativa precedida de transcrição reversa (RT-qPCR). Foram avaliados tecidos vegetativos e reprodutivos da cultivar Gala, amostrados durante o ciclo sazonal de crescimento e dormência da macieira. Com base na literatura e nas sequências de ESTs, cDNAs e genômicas para *Malus x domestica*, foram projetados iniciadores para os seguintes genes sugeridos como constitutivos: *ACT2*, *ACT11*, *ACTfam* (família gênica), *ARC5*, *C3HC4*, *CDC48*, *CKL*, *DLD*, *EF1 α* , *EF1 β* , *GAPDH*, *KEA1*, *MDH*, *PCS*, *PP2-A1*, *PP2A-A3*, *SAND*, *THFS*, *TMp1*, *TUB α 5*, *TUB β 6*, *UBC10* e *WD40*. A estabilidade dos genes foi determinada por dois diferentes descritores estatísticos, *geNorm* e *NormFinder*. Todas as combinações de *primers* testadas permitiram ampliações específicas e curvas de eficiência apropriadas, exceto para o gene *PP2A-A3*, cujo par foi rejeitado. Dos genes testados até o momento, pode-se sugerir *EF1 β* , *MDH* e *SAND* como os melhores genes normalizadores para diferentes tecidos-alvos de macieira.

¹ Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Biotecnologia, UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 9.500, Agronomia, Cx. Postal 15.005, 91501-970, Porto Alegre, RS. Estagiária Embrapa Uva e Vinho. Bolsista CAPES. pamela.perini@yahoo.com.br

² Professor, Laboratório de Biologia Molecular Vegetal, Centro de Biotecnologia, UFRGS. pasquali@cbiot.ufrgs.br

³ Professora, Núcleo de Genômica Funcional de Plantas, Departamento Genética, UFRGS. marcia.margis@ufrgs.br

⁴ Pesquisador, Laboratório de Genética Molecular Vegetal, Embrapa Uva e Vinho. Rua Livramento, 515, 95700-000 Bento Gonçalves, RS. luis@cnpuv.embrapa.br