

# SELEÇÃO DE GENES-REFERÊNCIA PARA ESTUDOS DE EXPRESSÃO GÊNICA UTILIZANDO PCR QUANTITATIVA EM MACIEIRAS

Pâmela Perini<sup>1</sup>; Giancarlo Pasquali<sup>2</sup>; Márcia Margis-Pinheiro<sup>3</sup>; Luís Fernando Revers<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Biotecnologia, UFRGS. E-mail: [pamela.perini@yahoo.com.br](mailto:pamela.perini@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Laboratório de Biologia Molecular Vegetal, Centro de Biotecnologia, UFRGS.

<sup>3</sup> Núcleo de Genômica Funcional de Plantas, Departamento Genética, UFRGS.

<sup>4</sup> Laboratório de Genética Molecular Vegetal, EMBRAPA Uva e Vinho.

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, cujos temas abrangem resistência a doenças, enxertia, exigência de frio, sabor e compostos nutracêuticos do fruto. 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, têm-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 $\alpha$* , *EF1 $\beta$* , *GAPDH*, *KEA1*, *MDH*, *PCS*, *PP2-A1*, *PP2A-A3*, *SAND*, *THFS*, *TMP1*, *TUB $\alpha$ 5*, *TUB $\beta$ 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 amplificações 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 $\beta$* , *MDH* e *SAND* como os melhores genes normalizadores para diferentes tecidos-alvos de macieira.

Palavras-chave: pomicultura, *Malus*, genes referência, RT-qPCR, expressão gênica

Apoio financeiro: CAPES, FINEP, EMBRAPA