

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE DETECÇÃO DO FEIJÃO GENETICAMENTE MODIFICADO DESENVOLVIDO PELA EMBRAPA

Edna Maria Moraes OLIVEIRA¹, Tatiane Corrêa de OLIVEIRA¹, Josias Correa de FÁRIA³, José Luiz Viana de Carvalho¹, Ivanilda Santos de LIMA²

¹Embrapa Agroindústria de Alimentos; ²Bolsista DTI/CNPq; ³Embrapa Arroz e Feijão

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja. Na safra de 2006/2007 foram produzidos 58,4 milhões de toneladas numa área plantada de 20,687 milhões de hectares, sendo a produção de grãos dividida entre o consumo interno e exportação de grãos, farelo e óleo, além de sementes para alimentação humana. Em 2006 o Brasil exportou US\$9,3 milhões de grãos de soja, farelo e óleo, representando 6,77% do total das exportações brasileiras (EMBRAPA, 2008). De acordo com as projeções do CONAB, a safra brasileira de 2008/2009 será de 61,27 milhões de toneladas cultivadas em cerca de 22 milhões de hectares (CONAB, 2008). Atualmente, existem muitas culturas geneticamente modificadas com parecer favorável da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) para comercialização, inclusive eventos "stacked", que apresentam mais de uma característica inserida. Além das culturas já aprovadas para comercialização no País, várias pesquisas vêm sendo realizadas, tanto por empresas privadas quanto por instituições públicas. Tais pesquisas visam desenvolver outras espécies de vegetais geneticamente modificados para consumo humano tais como feijão resistente ao vírus do mosaico dourado, feijão resistente ao caruncho, algodão tolerante a herbicida e resistente a fungos e bactéria, batata resistente a vírus, mamão resistente ao vírus da mancha anelar e alface resistente a fungos, arroz resistente a fungos e com maior tolerância a baixas temperaturas e à secura, cana de açúcar tolerante a herbicidas, soja tolerante a herbicida do grupo das imidazolidonas, entre outros (FÁRIA et al., 2006; SAMPAIO, 2005).

OBJETIVO

Desenvolvimento e implementação da detecção de feijão GM da EMBRAPA.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Amostras de feijão convencional e geneticamente modificados plantados em diferentes locias e em diferentes épocas do ano foram enviadas pela Embrapa Arroz e Feijão. Para a Embrapa Agroindústria de Alimentos. As amostras foram analisadas com e sem cozimento.

Extração de DNA

Foi realizado procedimento de extração do DNA genômico total utilizando-se dois protocolos de extração: CTAB e o kit DNeasy[®] (Qiagen).

Quantificação de DNA

A quantificação do DNA genômico total extraído das amostras foi procedida através do método de fluorometria, utilizando equipamento fluorômetro (*Qubit[®] Fluorometer/Invitrogen*). Foram utilizados dois kits de acordo com a quantidade do DNA que se deseja quantificar. O kit *Quant-IT[™] dsDNA BR Assay Kit* é indicado para quantidades entre 2 e 1000 ng de DNA; e o kit *Quant-IT[™] dsDNA HS Assay Kit* é mais sensível à quantidades de DNA entre 0,2 e 100 ng.

PCR

A PCR foi conduzida utilizando os seguintes pares de primers:

5'HPXHO CCTCGAGATAGTCCGGTGCAG3'
5'HPKPN AGGTACCATCGCGCATCCGAAGC3'
Amplicon de 424pb.

5'AHASP124ACTAGAGATTCCAGCGTCAC3'
5'AHAS500C GTGGCTATACAGATACTGG3'
Amplicon de 685 pb.

RESULTADOS

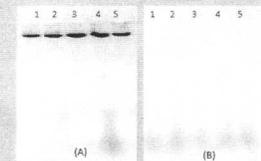


Figura 1: Eletroforese em gel de agarose de DNA genômico total de amostras de feijão transgênico sem (A) e com cozimento (B).

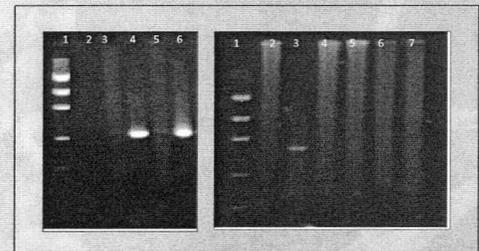


Figura 2: (I) PCR com primers para o hairpin de interferência: 1- Padrão Low Mass; 2- vazio; 3 e 5 - amostras de feijão convencional com cozimento; 4 e 6- amostras de feijão transgênico (evento 5.1) com cozimento. (II) PCR com primers para o AHAS: 1- Padrão Low Mass; 2 - amostras de feijão convencional sem cozimento; 3 - amostra de feijão transgênico (evento 5.1) sem cozimento; 4 e 6- amostra de feijão convencional com cozimento; 5 e 7 - amostra feijão transgênico (evento 5.1) com cozimento.

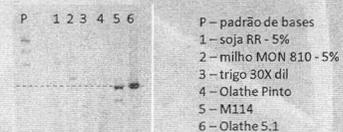


Figura 3: Teste de especificidade da PCR conduzida usando os primers HP.

CONCLUSÃO

As amostras de feijão cozido (transgênico e convencional) foram analisadas e as reações com os primers HP (amplicon de 424pb) foram positivas para o transgênico e negativas para o convencional, como esperado. Já as reações usando os primers para AHAS (amplicon de 685pb) não apresentaram bandas, pois um amplicon com mais de 500pb dificilmente é detectado num produto processado (processamento térmico). Os resultados confirmam que os primers HP são específicos para o feijão transgênico (evento 5.1), inclusive para o feijão cozido. O teste de especificidade mostrou que a detecção usando os primers HP é construção específica para o evento 5.1, pois somente este apresenta a banda com tamanho esperado de 424pb, enquanto outros organismos apresentam bandas não específicas com outros tamanhos.