

## Seleção e avaliação de genes reguladores via RT-qPCR em diferentes tecidos de feijoeiro comum

Wendell Jacinto Pereira<sup>1</sup>, Priscila Zaczuk Bassinello<sup>2</sup>, Rosana Pereira Vianello<sup>3</sup>

O feijão é uma importante fonte de nutrientes por apresentar elevado teor proteico, ferro, cálcio, vitaminas, carboidratos e fibras. Devido a sua importância nutricional e econômica o feijoeiro comum tem sido amplamente pesquisado visando à obtenção de cultivares com maior potencial produtivo, nutricional e tolerância aos estresses biótico e abiótico. A validação experimental dos dados de transcrição gênica tem sido realizada em grande parte a partir da técnica da reação da polimerase em cadeia (PCR) quantitativa em tempo real (RT-qPCR). Para o emprego dessa técnica é necessário a utilização de genes de referência adequados para a normalização dos resultados. O objetivo desse estudo foi o de avaliar 18 genes de referência, dos quais 16 encontram-se descritos na literatura e dois foram identificados a partir de sequências do genoma de feijoeiro comum, quanto à estabilidade de expressão em diferentes tecidos e condições ambientais. Para cada gene avaliado foi gerado uma matriz de titulação de primers *Forward* e *Reverse* para determinar os melhores valores de Ct e ausência de formação de dímeros. Após o ajuste das condições de amplificação os genes de referência foram avaliados em um conjunto de 24 amostras de feijoeiro comum. Os algoritmos computacionais utilizados para análise da estabilidade dos genes foram: NormFinder, DataAssist<sup>TM</sup> e o genorm<sup>PLUS</sup>. A partir da curva de dissociação foram consideradas inadequadas 13 genes de referência por formarem dímeros. Dos cinco genes restantes, o da  $\beta$ -Tubulin se destacou por apresentar estabilidade de expressão na maioria dos tecidos avaliados, como folha para os pools gênicos Andino e Mesoamericano, grão e raiz. Os genes T197 e Pv18S apresentaram perfil estável de amplificação em tecido de vagem e raiz, enquanto o PvAct foi considerado adequado para raiz e grãos. Esses genes apresentaram estabilidade de expressão nos tecidos na presença e ausência dos estresses bióticos e abióticos. Os genes selecionados servirão como controles internos em todas as RT-qPCT subsequentes nas avaliações de RNA-seq sob análise com feijoeiro comum.

<sup>1</sup> Estudante de Graduação em Biotecnologia, bolsista de Iniciação Científica na Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, wendell.j.p@hotmail.com

<sup>2</sup> Pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão– CNPAF/Santo Antônio de Goiás. E-mail: prizac@gmail.com

<sup>3</sup> Pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão– CNPAF/Santo Antônio de Goiás. E-mail: rosanapv@ymail.com