



IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE OGMs EM ALGODÃO ATRAVÉS DE PCR EM TEMPO REAL*.

HAIKO ENOK SAWAZAKI¹; LARISSA NOGUEIRA²; MILTON GERALDO FUZATTO³

¹Pesquisadora- Instituto Agronômico de Campinas, Centro de Recursos Genéticos Vegetais, e-mail: henok@iac.sp.gov.br

²Estudante de Tecnologia em Controle Ambiental, Universidade Estadual de Campinas, e-mail: ; lalinogueira@hotmail.com

³Pesquisador- Instituto Agronômico de Campinas, Centro de Grãos e Fibra, e-mail: mfuzatto@iac.sp.gov.br

*Projeto financiado pela FAPESP

Resumo: Para obtenção de uma metodologia mais barata de quantificação de evento transgênico, utilizou-se a metodologia de PCR em tempo real com BRYT™ Green ao invés da mais cara utilizada na Europa com Taqman, para a detecção e quantificação dos eventos Bollgard I, Roundup Ready, Liberty Link e Widestrike (genes *cryIAC* e *cryIF*) em algodão. O DNA foi extraído de grãos de sete variedades de algodão com evento e quatro sem evento, pelo método CTAB. As reações otimizadas para cada iniciador desenvolvido mostraram total especificidade em relação aos eventos estudados. O número de cópias do evento dividido pelo do gene de referência *acp1* (acyl carrier protein 1) e multiplicado por 100 deu o valor em porcentagem. As reações das curvas-padrão do DNA evento misturado com DNA sem evento (20%, 2,85%, 0,4% e 0,06%) foram feitas com 100ng DNA. A sensibilidade foi de 0,06%, o R2 variou de 0,98 a 0,99 e a Eficiência de PCR de 0,9 a 1,1. Análises de quantificação em triplicata mostraram variação das porcentagens entre 90-92 a 98-101, com um erro de 2 a 10% e variância de 0,33 a 3, valores dentro dos limites europeus, mostrando boa acurácia e repetitividade. Os resultados de quantificação comparados com uma análise externa mostrou reprodutibilidade. A robustez dos dados possibilitou a análise específica e quantitativa de eventos transgênicos com uma metodologia mais barata, com acurácia, repetitividade e exatidão.

Palavras-chave: PCR em Tempo real; transgênico; algodão.