

Detecção do evento transgênico GTS 40-3-2 (Roundup Ready) em sementes e produtos alimentícios derivados de soja pela técnica de PCR em tempo real

Matheus Oliveira¹, Cícero Kommers¹, Nilo Ikuta¹, Vagner Lunge¹

¹Universidade Luterana do Brasil- ULBRA

E-mail: matheuskunrath92@gmail.com

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) tornou—se a cultura agrícola de maior crescimento, com aproximadamente 53% das lavouras de grãos no Brasil nas últimas décadas. Este crescimento está associado a um aumento da produtividade devido à maior eficiência dos produtores, ao manejo otimizado das lavouras e principalmente aos avanços tecnológicos, entre os quais a introdução de cultivares transgênicos (organismos geneticamente modificados, OGM) (MAPA, 2014). Atualmente existem diversas cultivares comerciais geneticamente modificadas plantadas no Brasil, que possuem um dos cinco eventos transgênicos aprovados pela CTNBio: BtRR2Y, A-2704-12 (Liberty Link), A5547-127 (Liberty Link), BPS-CV127-9 (Cultivance) e GTS-40-3-2 (Roundup Ready ou RR) (CIB, 2014). A soja (convencional e transgênica) tem sido cada vez mais utilizada como matéria prima para os mais diversos produtos alimentares, tanto na nutrição humana como animal. No Brasil, existe regulamentação específica para rotulagem de alimentos com grãos transgênicos (Decreto n 4680/03), o qual determina que qualquer produto que contenha acima de 1% de OGM em sua composição final deve ser rotulado como transgênico (COBAIASHI, 2012).

OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi estabelecer e validar a técnica de PCR em tempo real na detecção do evento específico GTS 40-3-2 em amostras de grãos de soja e produtos alimentícios.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram obtidas 30 amostras, sendo 22 sementes (20 Roundup Ready, uma Intacta RR2 PRO e uma convencional), 3 produtos comerciais para consumo humano e 5 para consumo animal (ração). Também foram obtidas 9 farinhas de soja com diferentes concentrações de grãos transgênicos como controle. Foram realizados os desenhos de iniciadores (*primers*) e sonda (*probe*) específicos para a detecção dos genes da lectina (constitutivo da soja) e CP4 – EPSPS (presente no evento GTS 40-3-2, gene proveniente de Agrobacterium tumefaciens). As sementes foram pré-germinadas antes da realização da extração, enquanto os produtos comerciais foram analisados diretamente. A extração do DNA foi realizada pelo método de adsorção em sílica e a amplificação pela técnica de PCR em tempo real no equipamento StepOnePlus. As condições de amplificação foram as seguintes: 1 ciclo inicial a 95 C durante 3 minutos e 40 ciclos de 95 C durante 15 segundos, e 60 C durante 60 segundos. As curvas de amplificação das amostras positivas foram visualizadas diretamente no equipamento e após foi definido o ciclo limite (Ct, Cycle treshold) de cada amostra. Além disso, as amostras foram submetidas à detecção em gel de poliacrilamida para visualização do fragmento amplificado (120 bp para o lecitina e 117 bp para o gene CP4-EPSPS).

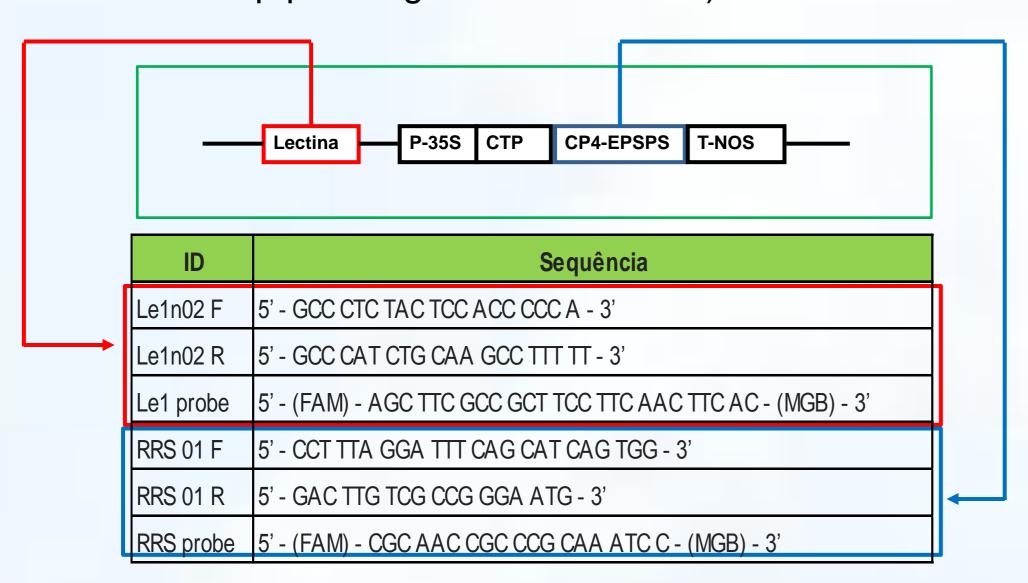


Figura: Esquema apresentando a construção do evento GTS 40-3-2, presente na soja RR, e iniciadores e sondas utilizados na detecção do evento.

RESULTADOS

Os resultados demonstraram que as 20 sementes Roudup Ready mostraram-se positivas tanto para o gene da lectina, quanto para o CP4-EPSPS. As sementes Intacta RR2 PRO e convencional ("orgânica") apresentaram resultados positivos para lectina e negativos para CP4-EPSPS. Entre os 8 produtos comerciais, uma farofa e duas rações apresentaram resultados negativos para lecitina e CP4-EPSPS, duas farofas apresentaram resultados positivos para a lectina e negativo para o CP4-EPSPS, e três rações apresentaram resultados positivos para lectina e CP4-EPSPS.

Tabela: Resultados das análises de sementes e produtos alimentícios derivados de soja.

Amostras	Lectina	CP4-EPSPS	Tipo de Amostra
ORGÂNICO	Pos	Neg	Convencional
8849 INTACTA	Pos	Neg	Transgênico
NS 6262 RR	Pos	Pos	Transgênico
5953 RSF RR	Pos	Pos	Transgênico
NS 4823 RR	Pos	Pos	Transgênico
6863 RSF RR	Pos	Pos	Transgênico
DON MARIO 5 - 9i RR	Pos	Pos	Transgênico
BMX POTENCIA RR	Pos	Pos	Transgênico
FPS URANO RR	Pos	Pos	Transgênico
BMX TURBO RR	Pos	Pos	Transgênico
DON MARIO 7.0i RR	Pos	Pos	Transgênico
BMX ATIVA RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 2825 RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 249 RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 2737 RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 219 RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 248 RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 215 RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 250 RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 235 RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 231 RR	Pos	Pos	Transgênico
CD 206 RR	Pos	Pos	Transgênico
Farofa Pronta - Temperada Marca: Corsetti	Neg	Neg	Nutrição Humana
Farofa Pronta Marca: Fritz e Frida	Pos	Neg	Nutrição Humana
Farofa de Soja Marca: Yoki	Pos	Neg	Nutrição Humana
Farinha de Víceras e Ossos Aves - A	Neg	Neg	Nutrição Animal
Farinha Pena Sangue Hidrolisado - A	Neg	Neg	Nutrição Animal
Ração Vegetariana - 0% Farinha de Víceras e Ossos Aves - A	Pos	Pos	Nutrição Animal
Ração Crescimento FL15	Pos	Pos	Nutrição Animal
Ração Final FL19	Pos	Pos	Nutrição Animal

CONCLUSÃO

Em conclusão, o teste pode ser aplicado na detecção do evento específico GTS 40-3-2 presente na soja OGM Roundup Ready, tanto em sementes como em produtos alimentícios com a presença de soja. Novos estudos estão sendo realizados para análise quantitativa de transgênicos em alimentos e sementes.

REFERÊNCIAS

COBAIASHI, D.M. Avaliação da Metodologia de detecção e quantificação por PCR em tempo real de organismos geneticamente modificados em alimentos: aspectos de produção, processamento e amostragem, SP. São Paulo, 2012. 87p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos, Área de Bromatologia) — Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Soja. Disponível em http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja. Acesso em 20 de fevereiro de 2014

CIB. Conselho de Informações sobre Biotecnologia. Eventos Aprovados. Disponível em http://cib.org.br/biotecnologia/regulamentacao/ctnbio/eventos-aprovados/. Acesso em 21 de fevereiro de 2014.





