



DETECÇÃO DE EVENTOS TRANSGÊNICOS DE MILHO (*Zea mays*) EM PRODUTOS IN NATURA E PROCESSADOS INDUSTRIALMENTE PELA REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (qPCR)

Carlos Alberto Machado de Oliveira ¹, Nilo Ikuta ² e Vagner Ricardo Lunge ²

¹ Aluno do curso de Agronomia – Bolsista PIBIT – Fapergs – carlos_machado@icloud.com

² Professor do PPGBioSaúde – vagner.lunge@gmail.com

INTRODUÇÃO

O Milho Geneticamente Modificado ocupou, na última safra (2015/16), aproximadamente 13,2 milhões de hectares, sendo o segundo grão GM mais cultivado no país (ISAAA, 2016). Atualmente no Brasil, o milho transgênico conta com 21 eventos GM liberados para comercialização provenientes de dez principais eventos transgênicos caracterizados por uma construção genética definida e própria. No Brasil, o Decreto nº 4680/03 determina que qualquer produto que contenha acima de 1% de OGM em sua composição final deve ser rotulado como transgênico.

OBJETIVO

O presente projeto objetivou testar produtos alimentícios humanos e animais que utilizem milho na sua composição. As técnicas utilizadas tiveram como alvos: o promotor p-35S, o terminador t-NOS, o gene principal cry1A.105 (associado com resistência a insetos) e o gene endógeno do milho *hmg*.

MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes de milho foram obtidas em cooperativas, empresas produtoras de sementes e agropecuárias locais. Também foram obtidos produtos *in natura* e processados industrialmente para consumo humano e animal, adquiridos no comércio.

Foram analisadas 61 amostras, sendo 18 cultivares, 13 grãos de milho a granel utilizados para formulação de rações, 20 espigas de milho verde para consumo *in natura*, 6 farinhas de milho e 4 amostras de milho em conserva.

Revisão Bibliográfica das Técnicas de PCR

Desenho dos *primers* e sondas p-35S, cry 1A.105, t-NOS e *hmg*

Implementação Procedimentos Analíticos

Análise das amostras de milho

RESULTADOS

Os resultados demonstraram a efetiva detecção dos alvos *hmg*, p-35S, cry1A.105 e t-NOS nas 18 diferentes amostras de sementes transgênicas (Tabela 1). Em análises comparativas, o PCR em tempo real para o alvo p-35S demonstrou melhor desempenho analítico em comparação ao alvo t-NOS. Conforme esperado, cry1A.105 foi efetivamente detectado nas cultivares que apresentavam este gene. As regiões promotoras p-35S e terminadora t-NOS também foram detectadas apenas nas cultivares que possuíam estas inserções. Todas cultivares apresentaram resultado positivo para o gene *hmg*.

Tabela 1: Descrição das sementes de milho com cultivar conhecido

Tipo	Cultivar	<i>hmg</i>	p-35S	Cry 1A.105	t-Nos	Evento
Convencional	AG 8025	Pos	Neg	Neg	Neg	-
	BM 911	Pos	Neg	Neg	Neg	-
	FORMULA	Pos	Neg	Neg	Neg	-
	CELERON	Pos	Neg	Neg	Neg	-
	STATUS	Pos	Neg	Neg	Neg	-
Transgênico	AG 5011	Pos	Pos	Neg	Neg	MON810
	BM 915 PRO	Pos	Pos	Pos	Pos	MON89034
	BM 3066 PRO2	Pos	Pos	Pos	Pos	MON89034 x NK603
	SHS 7990 PRO2	Pos	Pos	Pos	Pos	MON89034 x NK603
	SHS 7915 PRO	Pos	Pos	Pos	Pos	MON89034
	SHS 7920 PRO	Pos	Pos	Pos	Pos	MON89034
	BM 3063 PRO2	Pos	Pos	Pos	Pos	MON89034 x NK603
	FORMULA TL	Pos	Pos	Neg	Pos	Bt 11
	CELERON TL	Pos	Pos	Neg	Pos	Bt 11
	STATUS VIP3	Pos	Pos	Neg	Pos	Viptera, TL, TG, TL/TG
	STATUS VIP	Pos	Neg	Neg	Pos	MIR162
	DKB 240 PRO	Pos	Pos	Pos	Pos	MON89034
	2B647 PW	Pos	Pos	Pos	Pos	MON89034 x TC1507

Nas demais amostras de milho comercial e processados industrialmente também foi possível detectar os alvos analisados e descrever o provável evento presente nas amostras. (Tabela 2)

Tabela 2: Descrição das amostras de milho e processados industrialmente

	n	<i>hmg</i>	p-35S	Cry 1A.105	t-Nos	
Farinha de Milho	1	Pos	Neg	Neg	Neg	Convencional
	5	Pos	Pos	Pos	Pos	Transgênico
Grãos de Milho	2	Pos	Pos	Neg	Pos	Transgênico
	2	Pos	Pos	Pos	Pos	Transgênico
	1	Pos	Pos	Neg	Neg	Transgênico
	7	Pos	Neg	Neg	Neg	Convencional
	1	Pos	Neg	Neg	Pos	Transgênico
Milho em Conserva	3	Pos	Neg	Neg	Neg	Convencional
	1	Pos	Pos	Neg	Neg	Transgênico
Milho Verde	19	Pos	Pos	Pos	Pos	Transgênico
	3	Pos	Neg	Neg	Neg	Convencional
	1	Pos	Pos	Neg	Neg	Transgênico
	1	Pos	Neg	Neg	Pos	Transgênico
	3	Pos	Pos	Neg	Pos	Transgênico

CONCLUSÃO

As análises realizadas podem ser aplicadas para detecção de eventos transgênicos em produtos alimentares formulados com milho e para a validação de produtos rotulados como orgânicos livre de transgênicos. Novos estudos serão realizados para uma análise qualitativa de transgênicos em sementes, produtos comerciais e rações animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anklam, E.; Gadani, F.; Heinze, P.; Pijnenburg, H.; Eede, G.V.D Analytical methods for detection and determination of genetically modified organisms in agricultural crops and plant-derived food products. *European Food Research and Technology*, n.214, p. 3-26, 2002.
- Boom, R.; Sol, C.J.; Salimans, M.M.; Jansen, C.L.; Werheim-Van Dillen, P.M.; Van Der Noordaa, J.; Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol.* 1990 28(3):495-503.