

qPCR COMO FERRAMENTA DE MONITORAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) EM DIFERENTES FASES DE ENVELHECIMENTO

Cristielly O.S. Machado¹; Alisson F. Dantas¹; Tayara N. Colins¹; Rutiane
Moreira¹; Antonieta N. Salomão¹; Guilherme H. de Oliveira¹; Marília C.R.
Pappas¹; Priscila Grynberg¹, Ana C.M. Brasileiro¹; Marcos A. Gimenes^{1*}

¹ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. ² Embrapa Arroz e Feijão.
cristiellymachado10@gmail.com

A conservação de sementes em bancos de germoplasma é uma maneira eficaz de manter a variabilidade genética de espécies de plantas cultivadas para uso futuro. Apesar da redução do metabolismo, em função do baixo teor de água e baixa temperatura as quais são submetidas em banco de germoplasma, as sementes em conservação envelhecem lentamente. O teste de germinação é o principal método de monitoramento de sementes em conservação, mas ele não detecta estágios intermediários do envelhecimento. A perda da capacidade de germinação é precedida por uma série de eventos moleculares, entre eles, a perda da integridade do RNA. O objetivo desse estudo foi avaliar a integridade de transcritos encontrados em sementes de diferentes acessos de feijão armazenados no Banco genético da Embrapa com diferentes poderes de germinação e fases de envelhecimento via qPCR. RNAs de vida longa em feijão foram identificados usando genômica comparativa de RNAs de vida longa em arroz (*Oryza sativa* L.). Noventa genes de feijão que são ortólogos de arroz e tem transcritos traduzidos durante a germinação foram identificados. Foram desenhados primers para as regiões 5' e 3' de cada transcrito e os mesmos foram amplificados usando gDNA e posteriormente cDNA. Nas sementes, 30 transcritos foram identificados usando ambos os pares de primer 5' e 3'. A correlação entre Cycle threshold (C_t) foi obtido para 9 transcritos e amostras de sementes de diferentes fases de envelhecimento (PG: 100%, 98%, 96%, 45% e 4%) foi avaliada por regressão linear. Como resultado, pudemos observar que o valor de C_t é maior na região 5' de todos os transcritos do que na região 3' e o valor médio de C_t é maior em sementes com PG baixo do que nas de PG alto. Para o gene TRA, nas regiões 5' e 3', obtivemos para as amostras de PG 99% um C_t médio de 25,59 e 22,60, para os de PG 45% um C_t de 29,48 e 25,60, e para os de PG 4% um C_t de 31,03 e 26,29, respectivamente. Na regressão linear, houve uma correlação negativa entre PG e C_t , isto é, quanto maior o PG menor valor de C_t . Para o gene TRA, usando a média do C_t da região 5' e 3' obtivemos um valor de R^2 de 0.918 e 0.726, para o gene CLPC 0.916 e 0.571, para o gene LEA 0.6506 e 0.8669, para o gene PSMA 0.917 e 0.635, e para o gene SMP 0.883 e 0.631, respectivamente. Concluímos que há uma correlação entre PG e integridade dos transcritos e que a técnica de qPCR pode ser uma ótima ferramenta para monitorar a perda de integridade em sementes.

Palavras-chave: RNA; C_t ; C_q ; gene; poder de germinação; banco.

Agradecimentos: A FAP-DF pelo apoio financeiro (Processo 00193.00000928/2021-71)