



Obtenção de fragmentos derivados de transcritos diferencialmente expressos em raízes de cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas

Péricles de Souza Galisa¹, Willian Pereira², Helder Anderson Pinto da Silva³, Igor Maia Moreira⁴, Túlio Porto Gonçalo⁵, José Rodrigo da Silva⁵, Márcia Soares Vidal⁶, José Ivo Baldani⁶, Jean Luiz Simões de Araújo⁶, Verônica Massena Reis⁶

¹ Bolsista CNPq, Doutorado em Agronomia, Ciências do Solo, UFRRJ, periclesgalisa@yahoo.com.br

² Bolsista CAPES, Mestrando em Agronomia, Ciências do Solo, UFRRJ, willianpereira@yahoo.com.br

³ Bolsista CAPES, Mestrando em Biotecnologia Vegetal, UFRJ, helderanderson@rocketmail.com

⁴ Bolsista do CNPq de Apoio Técnico, igormaia@hotmail.com

⁵ Graduando em Agronomia, UFRRJ, joserodrigoufrjr@yahoo.com.br, tulioufrjr@gmail.com

⁶ Pesquisador Embrapa Agrobiologia, jean@cnpab.embrapa.br, marcia@cnpab.embrapa.br, baldani@cnpab.embrapa.br, veronica@cnpab.embrapa.br

Parte do nitrogênio utilizado pela cana-de-açúcar pode ser obtido através da associação com bactérias endofíticas diazotróficas. Muitos estudos auxiliados por ferramentas genômicas têm sido empregados para o entendimento dessa associação. Este trabalho teve como objetivo identificar genes diferencialmente expressos em raízes de cana-de-açúcar (variedade RB867515), em resposta à inoculação conjunta de cinco bactérias endofíticas diazotróficas (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense*, *Burkholderia tropica*). O RNA total foi extraído de raízes de cana-de-açúcar cultivada em condições de campo, 11 meses após a inoculação, e o cDNA sintetizado foi clivado com as endonucleases de restrição *EcoRI*/*MseI*, e utilizado em reações de cDNA-AFLP. Para a reação de pré-amplificação, foram utilizados os iniciadores *EcoRI*+A e *MseI*+C. O produto amplificado foi diluído cinco vezes e utilizado para amplificação seletiva com 32 combinações de iniciadores. O número elevado de iniciadores empregando os Fragmentos Derivados de Transcritos, gerados a partir da amplificação seletiva, proporcionou um elevado número de fragmentos monomórficos e polimórficos, o que dificultou o isolamento dos fragmentos de interesse. Contudo, o emprego de duas bases seletivas nos iniciadores pode ser necessário para a determinação de um menor número de fragmentos.

Palavras-chave: cDNA-AFLP; inoculação; bactérias diazotróficas

Linhas de Pesquisa: Biologia Molecular; Biotecnologia e Biossegurança

Categoria: Doutorado