

RESISTÊNCIA AO VÍRUS DO MOSAICO DOURADO DO FEIJOEIRO POR ENGENHARIA GENÉTICA*

*O mosaico dourado do feijoeiro é a principal doença causada por vírus, principalmente nos cultivos iniciados em fevereiro, podendo causar perdas elevadas, dependendo da incidência de seu vetor, a mosca branca (*Bemisia tabaci* e/ou *B. argentifolii*).*

Entre as várias medidas gerais de controle de doenças, a resistência genética do hospedeiro é a mais recomendada, por ser a mais segura e a de menor custo final ao produtor.

Como não existe suficiente grau de resistência em feijoeiro, este trabalho buscou a incorporação, através da engenharia genética, de um gene extraído do próprio vírus, visando obter níveis de controle satisfatórios da doença sob condições normais de cultivo.



METODOLOGIA

Um gene exótico, proveniente do próprio vírus do mosaico dourado do feijoeiro (VMDF), foi introduzido em tecidos meristemáticos de embriões de feijão, cultivar Olathe, na Embrapa Arroz e Feijão e na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A metodologia de introdução do gene consistiu do revestimento de micropartículas de tungstênio de 10 micra de diâmetro com o ácido nucléico desejado e o posterior bombardeamento destas partículas diretamente sobre o tecido meristemático. A máquina para o bombardeamento de partículas funciona com alta pressão produzida pelo gás hélio, o qual é inerte em relação ao feijoeiro. Os eixos embrionários foram a seguir cultivados assepticamente em meio de cultura contendo a citocinina benzilaminopurina (44,4 mM), resultando em quatro a oito brotos por eixo. Durante o processo de desenvolvimento dos eixos embrionários foi aplicada seleção contra os embriões não-transformados, usando o antibiótico kanamicina, cujo gene para sua detoxificação foi também introduzido no feijoeiro. A presença do gene exótico no feijoeiro foi detectada por análise de DNA genômico, através das técnicas de reação em cadeia da polimerase, e análise de Southern. Para testar o efeito do gene exótico, seis linhagens de feijoeiro assim obtidas foram inoculadas com o VMDF, usando 40 a 60 moscas brancas (*Bemisia tabaci*) virulíferas por planta. Foram observados a frequência diária da presença de sintomas e o tipo de sintoma desenvolvido e, a seguir, foi realizada a análise estatística dos dados obtidos.

RESULTADOS

Das seis linhagens transgênicas de feijoeiro analisadas, quatro continham o gene de interesse derivado do próprio vírus, enquanto outras duas continham apenas

os genes marcadores usados para seleção na parte do experimento conduzida *in vitro*. Após a inoculação, tipicamente 95% a 100% das plantas não-transgênicas (cv. Olathe), das plantas transgênicas apenas com os genes marcadores (linhagens 10-33 e 40-4) e daquelas de duas das progênes de plantas transgênicas contendo o gene do VMDF (26-2 e 44-22) apresentaram sintomas típicos do VMDF a partir de dez dias após a inoculação, incluindo clorose das nervuras, e amarelecimento das folhas trifolioladas, além de graus variados de nanismo e redução da área foliar. A Figura 1 mostra a demora de aparecimento de sintomas em duas progênes com o gene derivado do VMDF (26-16-36 e 26-16-27), até 40 dias após a inoculação, em comparação às demais. Algumas plantas não desenvolveram sintomas, enquanto outras apresentaram clorose limitada ou pequenas manchas nas folhas superiores. Considerando que as plantas transgênicas foram comparadas diretamente com o genótipo não-transgênico da mesma cultivar, a comparação do efeito do transgene sobre a resistência à virose foi possível. O progresso de mosaico dourado foi significativamente mais lento, além de as curvas mostrarem menor elevação nas linhagens 26-16-36 e 26-16-27, contendo o gene derivado do VMDF, quando comparadas às plantas controle ou contendo apenas os genes de seleção.

* **Josias Corrêa de Faria**, Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, 75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO.
E-mail josias@cnpaf.embrapa.br

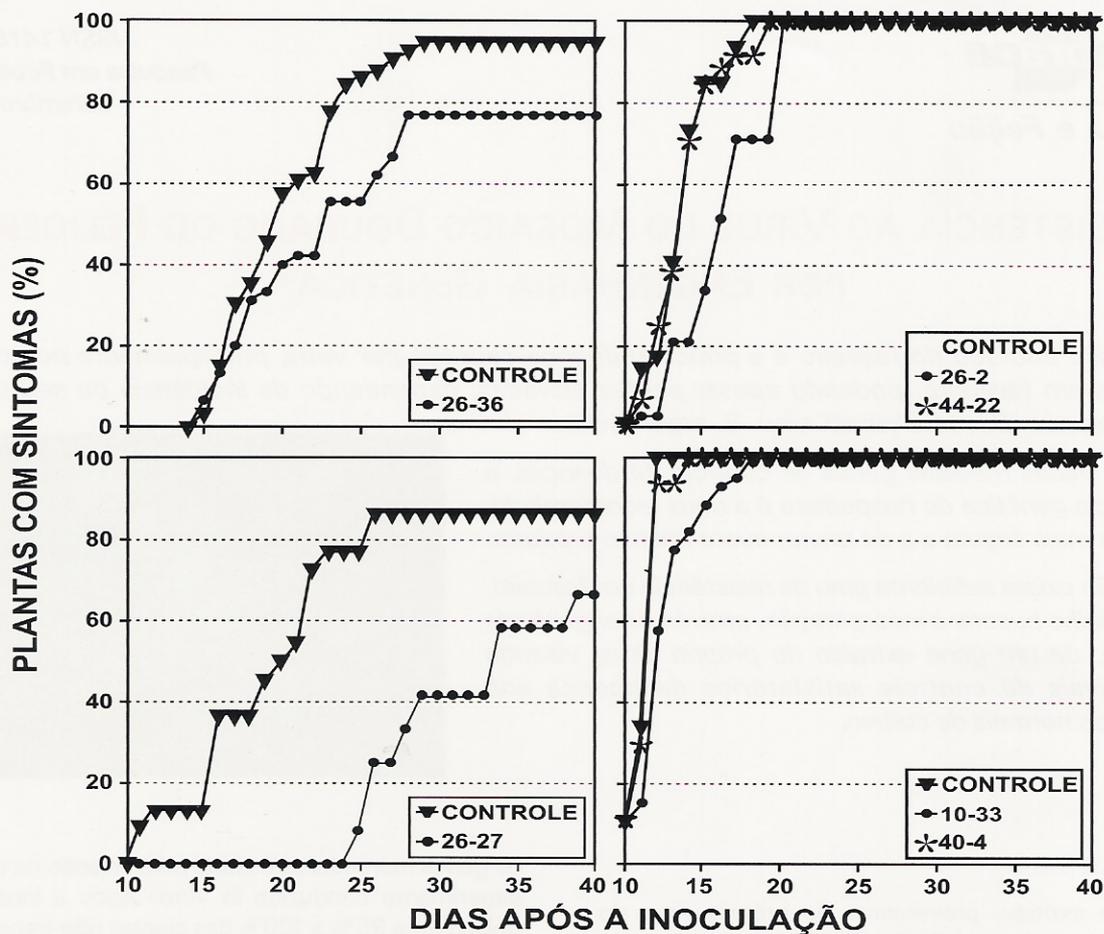


FIG.1 Progresso de mosaico dourado em plantas transgênicas e controle após inoculação com o vírus do mosaico dourado do feijoeiro. As progênies das linhas 26-36, 26-27, 26-2 e 44-22 contêm os genes do vírus, enquanto as das linhas 10-33 e 40-4 não contêm.

O gene exótico, proveniente do vírus do mosaico dourado do feijoeiro, resultou em proteção variável das plantas contra o vírus homólogo. Obteve-se menor grau de sintomas de mosaico e acúmulo de vírus nas progênies mais resistentes, além de maior demora de aparecimento de sintomas.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
 Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão
 Ministério da Agricultura e do Abastecimento
 Rod. Goiânia Nova Veneza km 12 Sto. Antônio de Goiás GO
 Caixa Postal 179 74001-970 Goiânia GO
 Telefone (062) 833 2110 Fax (062) 833 2100
 E-mail cnpaf@cnpaf.embrapa.br