

# BIOSSEGURANÇA DO FEIJOEIRO GENETICAMENTE MODIFICADO RESISTENTE AO MOSAICO DOURADO

JOSIAS CORRÊA DE FARIA<sup>1</sup>

**INTRODUÇÃO:** O desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas para fins de utilização na solução de problemas aplicados da agricultura passa por várias fases desde o planejamento da construção gênica a ser utilizada, até a obtenção dos dados necessários de biossegurança do produto final, todas igualmente importantes. Destas, a Biossegurança precisa ser pensada desde o início do projeto. A análise de biossegurança é uma etapa da pesquisa necessária para a solicitação da liberação comercial de um OGM. É estratégico para a EMBRAPA desenvolver esta etapa de experimentação final, para os seus produtos, e mais especialmente para culturas de importância para a agricultura familiar, como é o caso do feijoeiro. Uma cultivar resistente ao mosaico dourado (*Bean golden mosaic virus*- BGMV ou VMDF) terá impactos ambientais e econômicos positivos pela redução do uso intensivo de inseticidas específicos para o controle da mosca branca além do risco de exposição humana no processo de aplicação dos produtos. O desenvolvimento atual de um evento de feijoeiro transgênico com resistência ao mosaico dourado significa, na prática, a necessidade de obtenção dos dados necessários para solicitar a sua liberação comercial à Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). No presente projeto propôs-se obter tais dados nas áreas de caracterização molecular e fenotípica detalhada do evento transgênico, avaliações agro-ecológicas em três regiões do País, durante dois anos, e analisar a segurança alimentar do produto. Estas avaliações estão interligadas de modo a fornecer um conjunto de informações científicas para atestar a segurança do organismo geneticamente modificado (OGM). O projeto foi formulado com base na Resolução Normativa Nº 5 da CTNBio. Este feijoeiro é o primeiro produto transgênico inteiramente desenvolvido pela EMBRAPA, uma empresa pública, com possibilidade de chegar no mercado

**MATERIAL E MÉTODOS:** Para obtenção de resistência ao vírus do mosaico dourado do feijoeiro foi inserido um gene quimérico para expressão de um RNA contendo um fragmento do gene *rep* (fase de leitura *AC1*) do BGMV, posicionado em senso e antisenso (intercalados por um intron). Este RNA foi desenhado para formar um grampo com sequências de RNA de dupla fita (dsRNA) os quais são reconhecidos pela maquinaria celular para geração de pequenos fragmentos de RNA (siRNA) que por sua vez interferem na expressão do gene *rep* viral. Para a transformação genética via biobalística foi utilizado um plasmídeo (vetor) digerido com uma enzima de restrição que divide o gene de resistência à ampicilina (que somente é ativo em bactérias) em dois fragmentos, portanto tornando-o sem função. As avaliações de resistência ao mosaico dourado foram realizadas em casa de vegetação e a campo, demonstrando amplamente a resistência à doença. Folhas de plantas transgênicas e não transgênicas, de campo e casa de vegetação, foram usadas para demonstrar a presença dos RNAi, bem como os padrões do transgene na plantas originais e progênies (após cruzamentos e retrocruzamentos com variedade comercial). O evento desenvolvido, Embrapa 5.1, constitui-se na base para o desenvolvimento de cultivares comerciais de feijoeiro de diversos grupos para cultivo no Brasil.

---

<sup>1</sup> Engenheiro Agrônomo, PhD, Pesquisador, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, [josias@cnpaf.embrapa.br](mailto:josias@cnpaf.embrapa.br)

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Foram gerados 22 transformantes, dos quais dois foram resistentes ao mosaico dourado. As análises genéticas e moleculares mostraram que os transgenes foram inseridos em um único loco do genoma nuclear e se mantiveram estáveis por várias gerações de autofecundação e após cruzamentos e retro-cruzamentos com variedades comerciais não geneticamente modificadas (não-GM). Os siRNA (pequenos RNA interferentes) foram encontrados em folhas de feijoeiros cultivados em três regiões do Brasil (Londrina, PR; Santo Antônio de Goiás, GO e Sete Lagoas, MG) e em quantidades traço em sementes. Em sementes cozidas não foi possível detectar siRNA. A caracterização agrônômica do evento Embrapa 5.1 cultivado em três regiões do Brasil por um período de dois anos não mostrou qualquer alteração fenotípica no feijoeiro Embrapa 5.1 quando comparado ao seu parental Olathe Pinto. Também não foram observadas diferenças na germinação das sementes, mesmo após um período de envelhecimento. Estudos envolvendo o cultivo das plantas de feijoeiro GM e não-GM em condições de solo com baixa e alta fertilidade não mostraram diferenças significativas em parâmetros agrônômicos, refletindo que não há alteração na absorção de nutrientes nessas condições. A segurança alimentar humana e animal dos transgenes expressos no evento Embrapa 5.1 foi demonstrada por vários estudos que confirmaram que a composição do evento Embrapa 5.1 é substancialmente equivalente ao de seu parental e comparada à de outros feijoeiros cultivados no Brasil. Também foram realizados estudos de alimentação de animais que não mostraram alterações em relação aos animais que foram alimentados com o feijoeiro parental Olathe. Uma análise de composição extensa foi realizada em grãos colhidos de campos cultivados em Londrina (PR), Santo Antônio de Goiás (GO) e Sete Lagoas (MG) no ano de 2008 e em Santo Antônio de Goiás (GO) e Sete Lagoas (MG) no ano de 2009. O estudo mostrou que a composição de elementos nutricionais e anti-nutricionais encontrados no evento de feijoeiro Embrapa 5.1 são comparáveis aos níveis encontrados em seu parental (Olathe) e a outras quatro variedades convencionais cultivadas no Brasil. Adicionalmente foram realizadas análises do perfil protéico em grãos colhidos de campos cultivados com o Evento Embrapa 5.1 e Olathe convencional em Santo Antônio de Goiás (GO), Sete Lagoas (MG) e Londrina (PR). Foram identificadas as principais proteínas presentes em grãos maduros de feijão. Os grãos analisados mostram o mesmo padrão eletroforético nos distintos campos sem diferenças entre o evento Embrapa 5.1 e Olathe. A segurança do cultivo do evento de feijoeiro Embrapa 5.1 para o meio ambiente foi demonstrada em um grande número de estudos visando identificar possíveis efeitos sobre diversos organismos que interagem com a planta em condições de campo. Os ensaios foram realizados em casa de vegetação e campos cultivados em três regiões do Brasil por um período de dois anos. Foi determinada a flutuação populacional e a estrutura das populações de artrópodes associados ao feijoeiro Embrapa 5.1 e convencional na parte aérea e na superfície do solo. As espécies conhecidas como pragas e inimigos naturais mais comuns nos sistemas de produção do feijoeiro foram identificadas visualmente utilizando manuais de identificação de pragas e inimigos naturais. Nesses estudos foram observadas poucas diferenças na comunidade de artrópodes da superfície do solo entre os dois tratamentos, permitindo concluir que o evento Embrapa 5.1 não causa nenhum efeito sobre a diversidade de artrópodes presentes na superfície do solo. Estudos complementares foram realizados com uma análise quantitativa e qualitativa da macro e mesofauna (espécies mais abundantes foram do solo sob influência do feijoeiro Embrapa 5.1. Os grupos da macrofauna mais abundantes foram: Formicidae, larvas e adultos de Coleoptera, larvas de Diptera, Isoptera e Oligochaeta. A comunidade da mesofauna do solo teve o grupo Acari como o mais representativo. Outros grupos importantes foram: Formicidae, Collembola, larvas de Coleoptera e larvas de Diptera. O número médio de unidades taxonômicas por amostra ou riqueza média de grupos apresentou variação significativa em função da localidade, tanto para

a macrofauna quanto para a mesofauna do solo. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre os solos cultivados com feijoeiro convencional e transgênico Embrapa 5.1 tanto para macrofauna quanto para mesofauna do solo em nenhuma das três localidades estudadas. Foram realizados estudos para observar possíveis efeitos sobre o *Zabrotes subfasciatus*, que é o principal caruncho de grãos do feijão armazenado nas regiões mais quentes dos trópicos. Foi avaliado o efeito do feijoeiro Embrapa 5.1 sobre o desenvolvimento biológico de 10 gerações do caruncho *Z. subfasciatus*. O experimento foi conduzido no laboratório de Entomologia da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, GO. Os resultados demonstraram que o evento Embrapa 5.1 não interfere nos parâmetros de desenvolvimento biológico do *Z. subfasciatus*. Estudos para a determinação da produção de matéria seca e acumulação de nitrogênio foram realizados. Concluiu-se que a produção de matéria seca pelas plantas de feijoeiro variou entre os experimentos com solos das diferentes localidades analisadas. Entretanto, a comparação entre os dois genótipos (evento Embrapa 5.1 e seu parental Olathe Pinto) mostram comportamento similar frente às condições de estresse. A nodulação e dependência pela fixação biológica de N<sub>2</sub> pelas plantas de feijoeiro foi também avaliada e os resultados não mostraram alterações significativas entre o evento de feijoeiro Embrapa 5.1 e seu parental. A Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e sua associação com as raízes das plantas de feijoeiro foram estudadas pela análise da densidade de esporos de FMAs na rizosfera das plantas, colonização das raízes por FMAs indígenas, número de espécies de FMAs identificadas na rizosfera, composição de espécies na comunidade de FMAs indígenas. De uma maneira geral não se observou diferença significativa entre o feijoeiro Embrapa 5.1 e seu parental Olathe Pinto, sugerindo ausência de alteração da capacidade de micorrização devido a alteração genética inserida no evento de feijoeiro. Também foi realizada uma análise quantitativa e qualitativa dos microrganismos em solos sob influência do feijoeiro Embrapa 5.1. As análises do perfil de alfaproteobactérias na rizosfera do feijoeiro foram feitas em solos de campos cultivados com o feijoeiro Embrapa 5.1 e seu parental, em Santo Antônio de Goiás, Londrina e Sete Lagoas. Foi possível notar nos dendrogramas gerados, a partir dos perfis de DGGE, que não formaram-se grandes grupamentos, e quando formados não foram induzidos pelo cultivo do feijão geneticamente modificado evento Embrapa 5.1. Estudos da atividade enzimática do solo no qual foram cultivados o evento Embrapa 5.1 em distintas regiões do Brasil não permitiram observar diferenças estatísticas entre as amostras do feijoeiro transgênico Embrapa 5.1 e o convencional quanto às atividades das enzimas arilsulfatase (conjunto de enzimas do ciclo do enxofre), fosfatase ácida e β-glucosidase.

**CONCLUSÕES:** O feijão transgênico Embrapa 5.1 e Olathe Pinto foram semelhantes em todos os estudos realizados em relação à sua segurança ambiental, agrônômica e na alimentação. Não houve diferenças significantes entre os dois feijões para a maioria absoluta dos nutrientes analisados. O transgene encontra-se em duas cópias, porém em único loco, e a herança é simples. O feijoeiro Embrapa 5.1 é resistente ao mosaico dourado.

## REFERÊNCIAS

BONFIM, K.; FARIA, J. C.; NOGUEIRA, E. O. P. L.; MENDES, E. A.; ARAGÃO, F. J. L. RNAi-mediated resistance to *Bean golden mosaic virus* in genetically engineered common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Molecular Plant Microbe Interactions**, St. Paul, v. 20, n. 6, p. 717–726, 2007.

ARAGÃO, F. J. L.; FARIA, J. C. First transgenic geminivirus resistant plant in the field. **Nature Biotechnology** 27: 1086-1088. 2009.

FARIA, J. C.; CARNEIRO, G. E. S.; ARAGÃO, F. J. L. Gene flow from transgenic common beans expressing the *bar* gene. **GMCrops** 1(2):1-5. 2010.