

AVALIAÇÃO DE FLUXO GÊNICO EM FEIJOEIRO COMUM TRANSGÊNICO EXPRESSANDO O GENE *bar**

Josias Corrêa de FÁRIA¹
Francisco José Lima ARAGÃO²

INTRODUÇÃO

Fluxo gênico é a disseminação, transferência ou estabelecimento de genes/alelos típicos de uma população para outra da mesma espécie por meio da dispersão dos gametas ou dos zigotos. A extensão do processo migratório de alelos entre populações de uma mesma espécie é função da diferença nas frequências alélicas das duas populações, do tamanho e da estrutura das populações e da capacidade de dispersão dos gametas, sendo considerado um fator de evolução. O fluxo gênico pode ocorrer por meio da dispersão de semente ou de pólen, podendo ser vertical, quando envolve cultivares e/ou populações da mesma espécie, ou horizontal, quando envolve a hibridação entre espécies diferentes. Em plantas, o fluxo gênico se dá por pólen, sementes, e propágulos vegetativos. Destes, acredita-se que o pólen é o mais efetivo. Cientistas das mais variadas formações acadêmicas e áreas de pesquisa vêem o fluxo gênico ora como benéfico, ora como de alto risco potencial. Ou seja, o cruzamento de tipos silvestres com os cultivados para se obter alguma vantagem em novas cultivares é visto como benéfico no melhoramento genético, mas se o alelo da espécie cultivada se mover na direção do tipo silvestre, o fluxo é visto como indesejável e potencialmente perigoso. Os efeitos dos cruzamentos naturais tornaram-se ainda mais relevantes com o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas (GM). A ocorrência natural de polinização cruzada pode ser considerada um risco ecológico, considerando que os genes introduzidos na planta GM apenas ocasionalmente ou nunca seriam incorporados de forma natural. A possibilidade de transferência de transgenes para parentais silvestres, mesmo em baixas proporções, ressalta a necessidade de serem realizados estudos de biossegurança para fazer uma análise das possíveis conseqüências da liberação comercial de plantas GM no ambiente. Um exemplo é o feijoeiro GM para resistência ao mosaico dourado, com o marcador de resistência ao gifosinato de amônia, que está sendo avaliado sob vários aspectos relacionados à biossegurança, entre eles, a possibilidade de ocorrência de fluxo gênico. O conhecimento da ocorrência e da distância máxima em que o fluxo gênico pode ocorrer é importante, ainda, para manter a pureza das cultivares.

É aceito pela ciência que na maioria das culturas importantes no mundo sempre houve fluxo gênico entre espécies cultivadas, silvestres ou crioulas e entre os parentes com características de plantas daninhas, pois a maioria das cultivares desenvolvidas pelos métodos tradicionais de melhoramento são compatíveis sexualmente entre si e com seus parentes silvestres. A diferença deste processo com o desenvolvimento de plantas GM é que as novas ferramentas da biotecnologia possibilitaram a introdução de genes de espécies sexualmente incompatíveis, que dificilmente ocorreria de forma natural. Por esse motivo surgiu o conceito de “risco ecológico”, relacionado à segurança da liberação comercial de plantas GM no ambiente. A possibilidade de que a seleção natural atue elevando as frequências de alelos introduzidos, caso eles confirmem alguma vantagem seletiva aos seus portadores, é um dos questionamentos a respeito da liberação de plantas GM. A probabilidade de ocorrência de

¹Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, 75375-000, Santo Antônio de Goiás, GO, E-mail: josias@cnpaf.embrapa.br

²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, PqEB W5 Norte, 70770-900, Brasília, DF, E-mail: Aragão@cenargen.embrapa.br

*Apoio: EMBRAPA e FINEP

fluxo gênico, que mede o risco ambiental de plantas GM, dependerá de cinco fatores fundamentais: 1) distância de movimentação do pólen liberado da espécie GM; 2) sincronismo de floração da espécie recipiente com a GM; 3) compatibilidade sexual entre as duas espécies; 4) ecologia das espécies recipientes e 5) características florais específicas.

A oportunidade para o transgene escapar via hibridização depende primeiro da presença do tipo crioulo ou silvestre, ou de espécies aparentadas capazes de cruzar sob condições naturais.

O processo de transferência ocorre quando o pólen passa da cultura GM para a outra, de ocorrência espontânea, ou ainda quando sementes das plantas GM apresentam capacidade de permanência por períodos longos, em vida livre. Em contraste, têm-se, por exemplo, cultivares de batata que não florescem em determinados ambientes, ou de feijoeiro com presença marcante de cleistogamia e sem parentes silvestres na região de cultivo, e ainda, fora de seu centro de origem. Estes fatores tornam a transferência de genes improvável, ou de baixo impacto no caso do feijoeiro GM.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi desenvolvida uma linhagem transgênica de feijoeiro comum denominada de Olathe M1-4 a qual possui como marcador a resistência ao glifosinato de amônia (FARIA et al., 2006). Utilizando-se desta característica única, foram conduzidos três anos de estudo de fluxo gênico utilizando o cultivar parental como possível receptor do pólen do feijão transgênico e um ano com a cultivar Pérola e a linhagem quase isogênica Pérola M1-4. As condições de fluxo gênico foram favorecidas pelo semeio na mesma época e possuem ciclos de crescimento exatamente idênticos.

Experimento 1. Foi estabelecido um experimento com dez repetições no delineamento inteiramente casualizado, com parcelas de 5 linhas de 5 metros, sendo dois tratamentos: Olathe Pinto e Olathe M1-4, distanciando as parcelas de 1 m entre si. Em volta da área foi cultivado o feijoeiro parental (Olathe M1-4), perfazendo uma faixa de 10 metros, com espaçamento de 0,5 m entre linhas. Todos os tratos culturais foram aplicados uniformemente na parte interna e externa do experimento. O controle de pragas foi realizado de acordo com os princípios de manejo integrado de pragas do feijoeiro. O experimento foi repetido durante três anos consecutivos, na Embrapa Arroz e Feijão.

Experimento 2. Utilizando-se a linhagem quase isogênica Pérola M1-4 na qual foi colocado o transgene de Olathe M-14 por 4 retrocruzamentos semeou-se um quadrado central de 16 metros com o feijoeiro Pérola M1-4. Em todos os lados foi semeado Pérola numa faixa de 10 metros, com espaçamento de 0,5 m entre linhas. O experimento foi conduzido na Embrapa Soja, em Londrina (PR), e na Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, GO. Em ambos os locais foram coletadas amostras consistindo da colheita de 3 metros lineares de feijão, paralelo às parcelas experimentais, e nas cabeceiras das parcelas, para avaliar o fluxo gênico. O feijão colhido foi semeado em linhas, colocando como testemunhas o parental transgênico e o contraparte convencional. No estágio de folhas primárias foi aplicado o herbicida finale (glifosinato de amônia) na concentração de 0,03 % de ingrediente ativo. As plantas resistentes seriam o resultado do fluxo gênico, se houvesse, tendo em vista que o caráter é dominante (FARIA et al., 2006). Plantas que não morreram, candidatas a serem transgênicas, foram transferidas para vasos e levadas para casa de vegetação para completar o ciclo e para testes complementares. Todas receberam uma segunda aplicação de herbicida e foram avaliadas quanto à presença do transgene por PCR utilizando primers específicos. Foi feita ainda uma análise de progênies para confirmar se a planta teria sido o resultado de cruzamento natural (neste caso segregaria) ou de uma mistura involuntária de semente (caso em que não seria observado a segregação).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1. No total de três anos foram avaliadas 83.630 plantas derivadas de sementes colhidas de plantas convencionais (Tabela 1). Nenhuma planta foi resistente ao glifosinato de amônia nos testes. As linhas testemunhas de Olathe M1-4 não sofreram dano com o herbicida, enquanto as plantas das linhas de Olathe Pinto morreram.

Experimento 2. Duas avaliações de fluxo gênico com Pérola M1-4 foram conduzidas. As sementes colhidas de ambos os locais foram avaliadas na Embrapa Arroz e Feijão. Foram analisadas 121.331 plantas derivadas de sementes coletadas na Cultivar Pérola (Tabela 1). Nenhuma planta da testemunha convencional escapou ao tratamento com o herbicida finale. A Figura 1 mostra o padrão de ocorrência de fluxo gênico encontrado nos dois locais analisados. Todas as plantas transplantadas produziram progênies que segregaram para resistência ao herbicida indicando serem provenientes do fluxo gênico.

Tabela 1 - Número total de plantas analisadas quanto à possível ocorrência de fluxo gênico. Santo Antônio de Goiás, 2004-2006.

Ano/Cultivar	Total de plantas avaliadas	Total de plantas resistentes ao herbicida finale	Fluxo Gênico (frequência)
2004/Olathe Pinto	36.025	0	Negativo
2005/Olathe Pinto	37.156	0	Negativo
2006/Olathe Pinto	10.489	0	Negativo
Total parcial	83.630	0	Negativo
2006/Pérola-			
Santo Antônio de Goiás, GO	99.622	7	0,0070%
Londrina, PR	21.709	2	0,0092%
Total parcial/Pérola	121.331	9	0,0074%

Os dados obtidos não diferem daqueles de uma grande parte da literatura onde se observaram baixos índices de fluxo gênico no feijoeiro cultivado sob condições normalmente empregadas em lavouras. Há também uma forte evidência de que o fluxo gênico varia com a variedade/cultivar. Ou seja, as características florais, que desempenham papel importante na polinização cruzada, devem variar entre as cultivares, afetando a ocorrência de fluxo gênico.

O uso de um marcador de resistência a herbicida facilita a análise de fluxo gênico podendo-se utilizar de milhares de progênies para visualizar o fenômeno, de modo simples e confiável, e independente de técnicas moleculares de elevado custo. Esse marcador seletivo possibilita ainda quantificar o fluxo gênico entre plantas transgênicas e não-transgênicas de uma mesma cultivar, ao utilizar de isolinhas, garantindo a exata coincidência do período de floração e por conseguinte da ocorrência do fluxo gênico.

Os resultados de três anos de avaliações não sugerem a ocorrência de fluxo gênico entre a linhagem transgênica e seu parental Olathe Pinto, quando avaliadas de 1 a 10 metros da fonte de pólen, apesar da coincidência entre os seus períodos de floração. Por outro lado, quando se utilizou a cultivar Pérola, foi possível verificar um baixo nível de fluxo gênico a distância de até 3,5 metros da fonte de pólen. Em média o fluxo foi de 0,0074% tendo se analisado mais que 120.000 sementes, ou seja encontrou-se um evento a cada 13.500 plantas analisadas.

De acordo com a literatura, vários são os fatores que afetam a ocorrência de fluxo gênico em feijoeiro, principalmente a cultivar e as condições ambientais. Como no Brasil não há variedades selvagens de feijoeiro, o risco da contaminação genética por fluxo gênico entre plantas de feijão transgênicas e variedades selvagens é inexistente. Por outro lado deve-se

cuidar da preservação da pureza genética tanto das cultivares em geral com daquelas transgênicas que poderão vir a ser liberadas. A distância de cinco metros entre plantios é suficiente como medida de isolamento com uma margem de segurança de 1,5 metros.

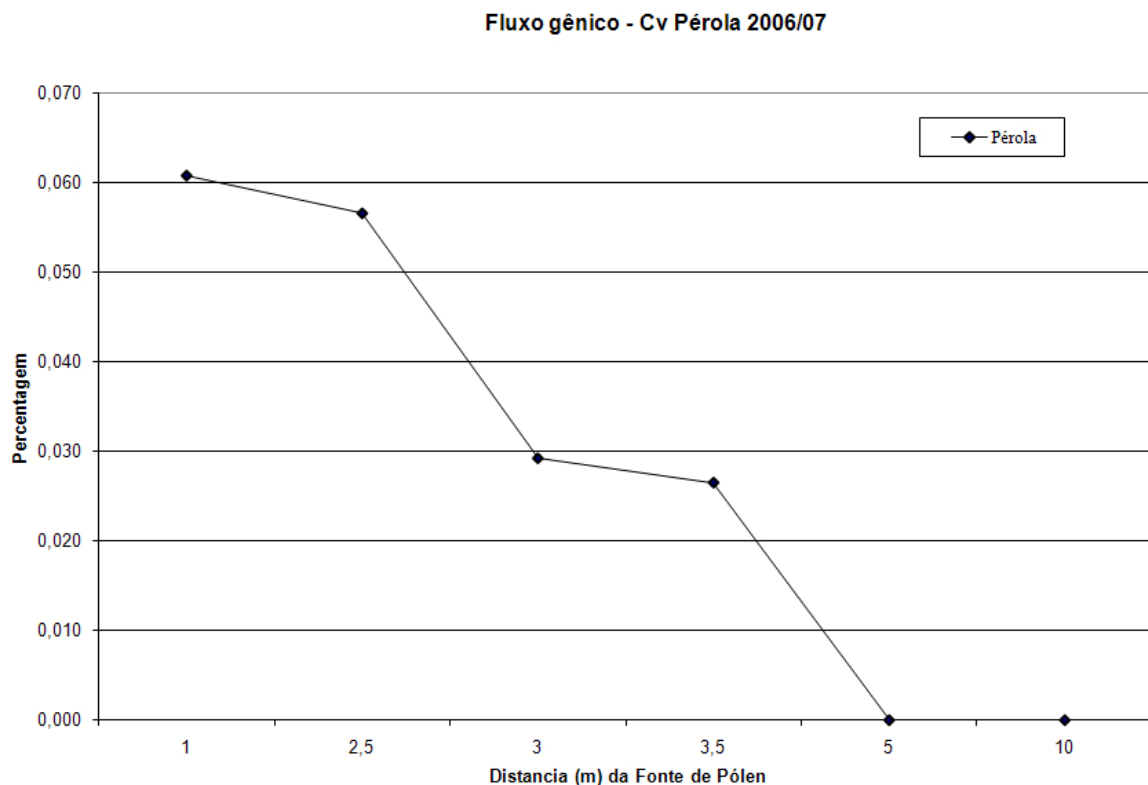


Figura 1 - Distância e ocorrência de fluxo gênico na cultivar Pérola.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FARIA, J. C.; ALBINO, M. M. C.; DIAS, B. B. A.; CANÇADO, L. J.; CUNHA, N. B.; SILVA, L. M.; VIANNA, G. R.; ARAGÃO, F. J. L. Partial resistance to Bean golden mosaic virus in a transgenic common bean (*Phaseolus vulgaris*) line expressing a mutant rep gene. **Plant Science**, Limerick, v. 171, p. 565-571, 2006.

Área: Genética e Melhoramento