

Clonagem e análise de variabilidade de *Bean golden mosaic virus*, no Estado de Goiás

Naíze Motta Bertholdo¹, Gesimária Ribeiro Costa Coelho², Josias Correa de Faria³

O *Bean golden mosaic virus* (BGMV) é o vírus causador do mosaico-dourado, responsável por prejuízos consideráveis em lavouras de feijão-comum. A variabilidade genética deste vírus é considerada baixa, e em geral existem poucas substituições nucleotídicas, de acordo com a localidade de origem dos isolados. Para analisar a variabilidade genética de geminivírus isolados do Estado de Goiás foram coletadas duas amostras de folhas de feijão-comum com sintomas típicos de infecção por BGMV, uma delas em Luziânia, GO, e outra em Santo Antônio de Goiás, GO. Foi realizada a extração de DNA e, em seguida, PCR com primers universais para geminivírus. Posteriormente, foi realizada, a partir do DNA total, uma reação de RCA para amplificação dos genomas virais. O produto dessa amplificação foi digerido com enzima de restrição HindIII, a qual espera-se digerir apenas o componente A do BGMV. Igualmente, o plasmídeo pBSKS (+) foi preparado com a mesma enzima para a clonagem do fragmento obtido. Ambos os produtos de digestão foram submetidos a uma reação de ligação, usando a enzima T4DNA ligase, com o produto da ligação usado para transformação de células competentes de *E. coli*, pelo método de choque térmico. As células foram plaqueadas em meio LB contendo ampicilina, na presença de IPTG e X-gal, e incubadas a 37 °C. As colônias brancas (candidatas a transformantes) obtidas foram cultivadas em meio LB líquido na presença de ampicilina e estas foram submetidas ao miniprep para a obtenção do plasmídeo recombinante. Estes foram digeridos com HindIII para verificação da presença do inserto. Seguiu-se com o sequenciamento das pontas dos clones usando o analisador automático ABI 3500 (Applied Biosystems) e primers universais para geminivírus. As sequências obtidas foram analisadas quanto à sua qualidade, usando o software Chromas, e submetidas ao BLASTn para identificá-las quanto à semelhança em relação a isolados existentes no banco de dados do NCBI. As sequências foram também submetidas a um alinhamento entre si, usando o software ClustalΩ. Ambas as amostras foram positivas para BGMV no PCR. Foram obtidos três clones do isolado de Luziânia e dois clones do isolado de Santo Antônio de Goiás. As sequências obtidas usando-se o primer pAV1c715 geraram maior identidade para ambos isolados, com a sequência do DNA-A de BGMV isolado em Cristalina (BR:Cri:16:12) enquanto as sequências obtidas usando-se o primer pAC1v1978 geraram maior identidade também com o isolado de DNA-A de BGMV de Cristalina, porém um isolado diferente (BR:Cri:13:12). A matriz de identidade gerada pelo ClustalΩ mostrou os isolados de Luziânia e de Santo Antônio de Goiás com identidade superior a %. Os dados obtidos estão de acordo com a literatura, de forma que isolados do mesmo Estado apresentam grande semelhança, e a variação destes entre si é pequena, sugerindo que, a população de BGMV é bastante uniforme. Isso se deve à baixa taxa de recombinação, já descrita em BGMV, em relação a outros geminivírus. É importante manter o monitoramento das populações virais para que os programas de melhoramento possam atender a demandas atuais e, no caso do BGMV, para que o FGM resistente ao vírus se mantenha eficaz.

¹ Graduanda em Biotecnologia da Universidade Federal de Goiás, estagiária da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, naize.bertholdo@colaborador.embrapa.br

² Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, gesimaria.coelho@embrapa.br

³ Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Fitopatologia/Biotecnologia, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, josias.faria@embrapa.br