



Biotecnologia, Transgênicos e Biossegurança

Editores

Fábio Gelape Faleiro
Solange Rocha M. de Andrade

Embrapa
Cerrados





**BIOTECNOLOGIA, TRANSGÊNICOS E
BIOSSEGURANÇA**

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Cerrados
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento



BIOTECNOLOGIA, TRANSGÊNICOS E BIOSSEGURANÇA

Editores Técnicos

Fábio Gelape Faleiro

Solange Rocha Monteiro de Andrade

Embrapa Cerrados
Planaltina, DF
2009

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rodovia Brasília/Fortaleza
Caixa Postal 08223
CEP 73310-970 – Planaltina, DF
Fone: (61) 3388-9898 – Fax: (61) 3388-9879
<http://www.cpac.embrapa.br>
sac@cpac.embrapa.br

Embrapa Informação Tecnológica

Parque Estação Biológica – PqEB s/n.º – Plano Piloto
CEP 70707-901 – Brasília-DF
Fone (61) 3448-4236 – Fax (61) 3340-2753
www.sct.embrapa.br
vendas@sct.embrapa.br

Coordenação editorial

Fernanda Vidigal Cabral de Miranda

Revisão de texto

Fernanda Vidigal Cabral de Miranda
Francisca Elijani do Nascimento
Jussara Flores de Oliveira

Normalização bibliográfica

Rosângela Lacerda de Castro

Projeto gráfico

Jussara Flores de Oliveira

Editoração eletrônica

Leila Sandra Gomes Alencar

Capa

Jussara Flores de Oliveira
Renato Berlim Fonseca

Fotos

Embrapa Cerrados

1ª edição

1ª impressão (2009): 1.000 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação - CIP
Embrapa Cerrados**

B616 Biotecnologia, transgênicos e biossegurança /
editores técnicos: Fábio Gelape Faleiro, Solange Rocha Monteiro
de Andrade. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2009.
183 p. : il.

ISBN 978-85-7075-050-1

1. Engenharia genética. 2. Planta transgênica. 3. Organismo
geneticamente modificado. 4. Melhoramento genético. I. Faleiro, Fábio
Gelape. II. Andrade, Solange Rocha Monteiro de.

631.5233 - CDD 21

©Embrapa 2009

AUTORES

ANDRÉ NEPOMUCENO DUSI

Engenheiro Agrônomo, Ph.D.
Pesquisador da Embrapa Hortaliças
dusi@cnph.embrapa.br

AUSTECLINIO LOPES DE FARIAS NETO

Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Cerrados
auster@cpac.embrapa.br

CLAUDETE TEIXEIRA MOREIRA

Engenheira Agrônoma, M.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Cerrados
claudete@cpac.embrapa.br

DEISE MARIA FONTANA CAPALBO

Engenheira de Alimentos, D.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente
deise@cnpma.embrapa.br

FÁBIO BUENO DOS REIS JUNIOR

Engenheiro Agrônomo, Ph.D.
Pesquisador da Embrapa Cerrados
fabio@cpac.embrapa.br

FÁBIO GELAPE FALEIRO

Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Cerrados
ffaleiro@cpac.embrapa.br

FRANCISCO JOSÉ LIMA ARAGÃO

Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
aragao@cenargen.embrapa.br

IÊDA DE CARVALHO MENDES
Engenheira Agrônoma, Ph.D.
Pesquisadora da Embrapa Cerrados
mendesi@cpac.embrapa.br

JOSÉ FRANCISCO DE FERRAZ TOLEDO
Engenheiro Agrônomo, Ph.D.
Embrapa Soja
toledo@cnpso.embrapa.br

MARIA JOSÉ AMSTALDEN MORAES SAMPAIO
Engenheira Agrônoma, Ph.D.
Pesquisadora da Embrapa-Sede
zeze.sampaio@embrapa.br

MARIANGELA HUNGRIA
Engenheira Agrônoma, Ph.D.
Pesquisadora da Embrapa Soja
hungria@cnpso.embrapa.br

MÔNICA CIBELE AMÂNCIO
Advogada e Bióloga, M.Sc.
Analista da Embrapa Transferência de Tecnologia
monica.amancio@embrapa.br

NELSON DOS SANTOS E SILVA
Químico
Assistente da Embrapa Cerrados
nelson.chemie@gmail.com

NEYLSON EUSTÁQUIO ARANTES
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Soja
neylson@epamiguberaba.com.br

PLÍNIO ITAMAR DE MELLO DE SOUZA
Engenheiro Agrônomo, Ph.D.
Pesquisador da Embrapa Cerrados
plinio@cpac.embrapa.br

SÉRGIO ABUD DA SILVA
Biólogo
Técnico Agrícola da Embrapa Cerrados
abud@cpac.embrapa.br

SOLANGE ROCHA MONTEIRO DE ANDRADE

Bióloga, D.Sc.

Pesquisadora da Embrapa Cerrados

solange@cpac.embrapa.br

Dedicamos este livro aos pesquisadores, professores e estudantes que trabalham com biotecnologia, transgênicos e biossegurança, levando o Brasil ao mais elevado nível de competência científica e tecnológica.

APRESENTAÇÃO

Este livro é um dos produtos científicos do I Seminário sobre Biotecnologia e Engenharia Genética e II Seminário sobre Transgênicos e Biossegurança realizados na Embrapa Cerrados, na ocasião da comemoração dos seus 30 anos. Nesses seminários foram debatidos temas atuais relacionados à biotecnologia moderna e aos transgênicos, os avanços e as perspectivas das pesquisas envolvendo o desenvolvimento de transgênicos, os diferentes aspectos técnicos e legais relacionados à biossegurança e, por último, os trabalhos realizados na Embrapa e mais especificamente na Embrapa Cerrados.

Atualmente, a mídia está sendo bombardeada por inúmeras reportagens sobre a biotecnologia e os produtos transgênicos, muitas vezes sem o devido embasamento técnico-científico. As informações repassadas para a sociedade, muitas vezes, são deturpadas por ideologias, medo, sensacionalismo e pela própria desinformação. Nesse sentido, os seminários realizados na Embrapa Cerrados e a edição deste livro tiveram como principais objetivos aprofundar a discussão sobre o tema e apresentar os trabalhos realizados na Embrapa e as potencialidades da tecnologia em benefício da sociedade.

José Robson Bezerra Sereno
Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

SUMÁRIO

Capítulo 1

Biotecnologia e Transgênicos 15

Capítulo 2

Engenharia Genética - Estado da Arte 31

Capítulo 3

Breve Histórico da Biossegurança dos Transgênicos 49

Capítulo 4

A Biossegurança Ambiental 61

Capítulo 5

Biossegurança Alimentar 77

Capítulo 6

Aspectos Legais da Pesquisa com Transgênicos no Brasil 89

Capítulo 7

A Rede de Biossegurança da Embrapa 109

Capítulo 8

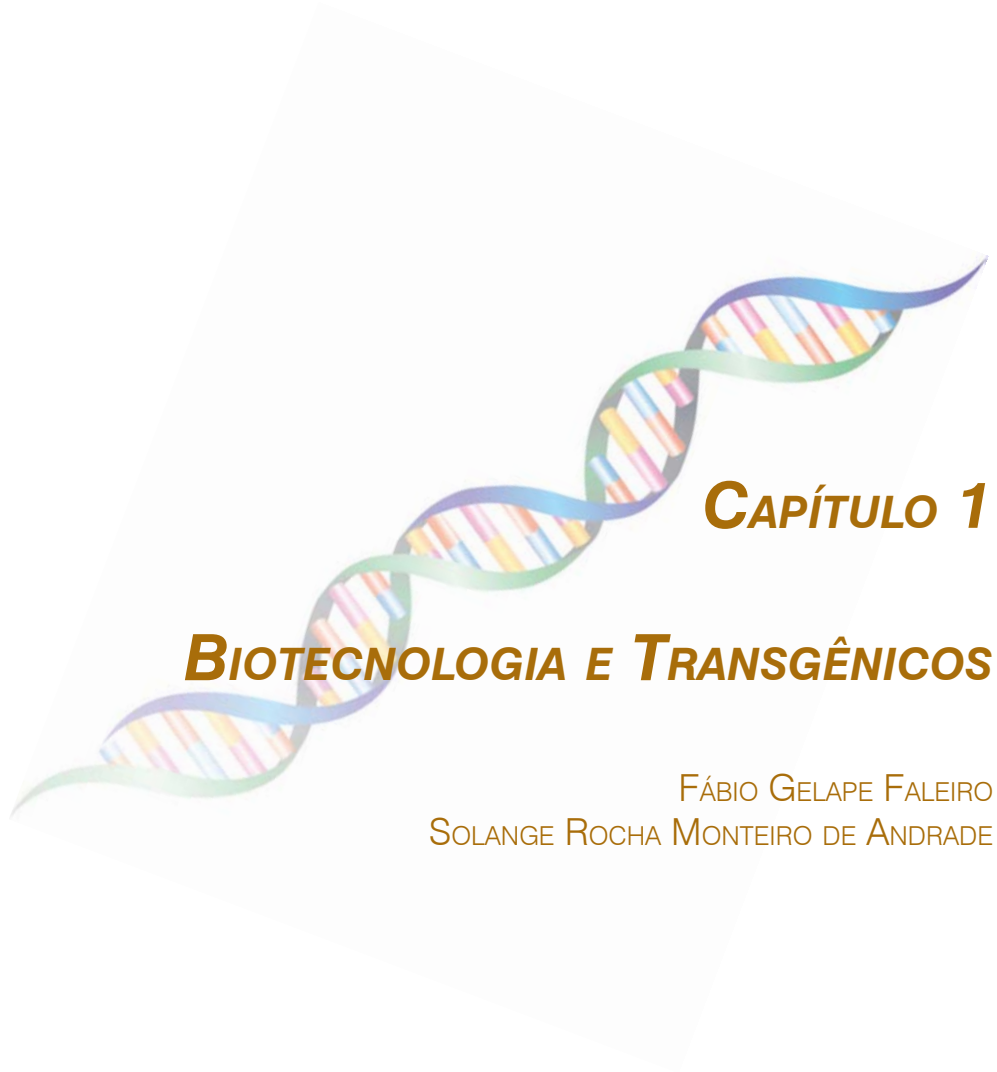
As Plantas Transgênicas e a Microbiota do Solo..... 119

Capítulo 9

A Importância da Avaliação da Fixação Biológica do Nitrogênio em Soja
Transgênica com Resistência ao Glifosato 147

Capítulo 10

O Programa de Melhoramento de Soja Transgênica para o
Cerrado 169



CAPÍTULO 1

BIOTECNOLOGIA E TRANSGÊNICOS

FÁBIO GELAPE FALEIRO
SOLANGE ROCHA MONTEIRO DE ANDRADE

BIOTECNOLOGIA E TRANSGÊNICOS

A Biotecnologia, conceitualmente, é a união da biologia com a tecnologia. É um conjunto de técnicas que utiliza os seres vivos no desenvolvimento de processos e produtos que tenham uma função econômica e (ou) social. A biotecnologia envolve várias áreas do conhecimento e, em consequência, vários profissionais,

sendo uma ciência de natureza multidisciplinar.

Apesar de o termo biotecnologia ser novo, o princípio é muito antigo. Por exemplo, a utilização da levedura na fermentação da uva e do trigo para produção de vinho e do pão (Fig. 1) vem de muitos anos antes de Cristo.



Fig. 1. Levedura, uva, trigo, pão e vinho.

Com a evolução da ciência em seus diversos setores, inúmeras metodologias biotecnológicas têm sido sistematizadas, aumentando seus benefícios econômicos, sociais e ambientais. Vários cientistas tiveram, com suas descobertas, grande importância para a evolução e sistematização da biotecnologia. Por exemplo, Louis Pasteur com a descoberta dos microrganismos em 1861 (Fig. 2). Tal descoberta revolucionou a medicina com a produção das vacinas e trouxe aplicações para a melhoria de processos e técnicas industriais e agropecuárias que utilizam os microrganismos. No Brasil, Oswaldo Cruz foi um importante seguidor de Louis Pasteur (Fig. 2). Quase 90 anos depois de sua morte, é lembrado em cada canto do território nacional, embora tenha tido, na época, a incompreensão de seus contemporâneos por causa de suas campanhas sanitárias, que tornaram a vacinação uma prática corriqueira e de extrema importância no Brasil.

Outros cientistas que merecem destaque dentro da biotecnologia são Gregor Mendel (Fig. 3), considerado o 'pai da genética', com a descoberta

da hereditariedade (como as características passam de geração para geração) em 1865, James Watson e Francis Crick (Fig. 3) com a descoberta da estrutura do DNA (ácido desoxirribonucléico, molécula responsável pela informação genética de cada ser vivo) em 1953.

A partir da descoberta da estrutura do DNA, houve uma revolução na área da genética e biologia molecular, surgindo, então, a biotecnologia moderna, que consiste na manipulação controlada e intencional do DNA por meio das técnicas de engenharia genética. Utilizando tais técnicas, foram possíveis a produção de insulina humana em bactérias e o desenvolvimento de inúmeras plantas transgênicas a partir da década de 1980.

As várias técnicas relacionadas à biotecnologia têm trazido, via de regra, benefícios para a sociedade (Fig. 4 e 5). As fermentações industriais na produção de vinhos, cervejas, pães, queijos e vinagres; a produção de fármacos, vacinas, antibióticos e vitaminas; a utilização de biocidas no controle biológico de pragas e doenças; o

uso de microrganismos visando à biodegradação de lixo e do esgoto; o uso de bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos para a melhoria de produtividade

das plantas; o desenvolvimento de plantas e animais melhorados por meio de técnicas convencionais de melhoramento genético e também a transformação genética.

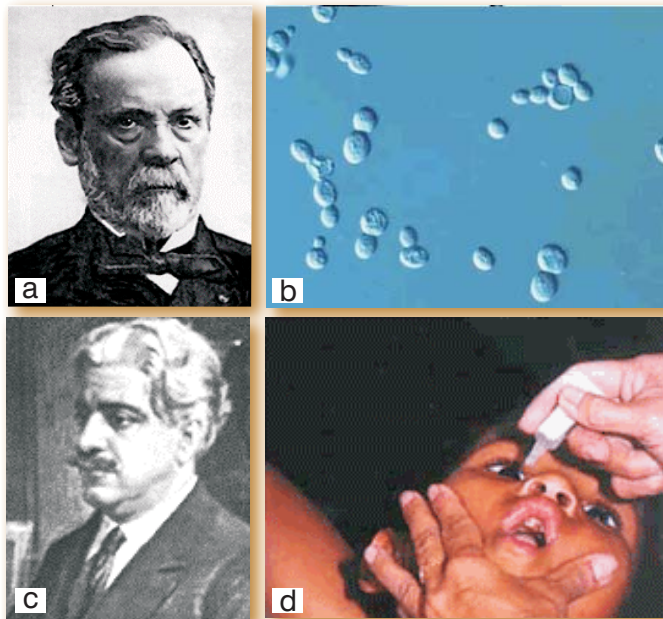


Fig. 2. Louis Pasteur (a); microrganismos (b); Oswaldo Cruz (c); vacinação (d).

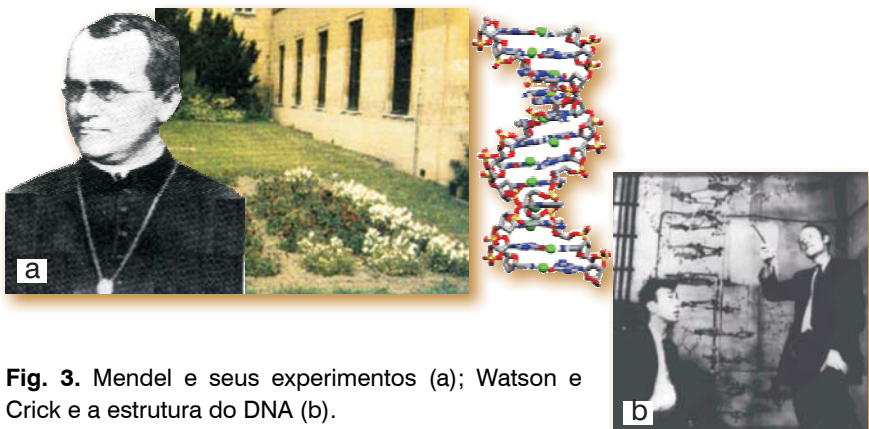


Fig. 3. Mendel e seus experimentos (a); Watson e Crick e a estrutura do DNA (b).

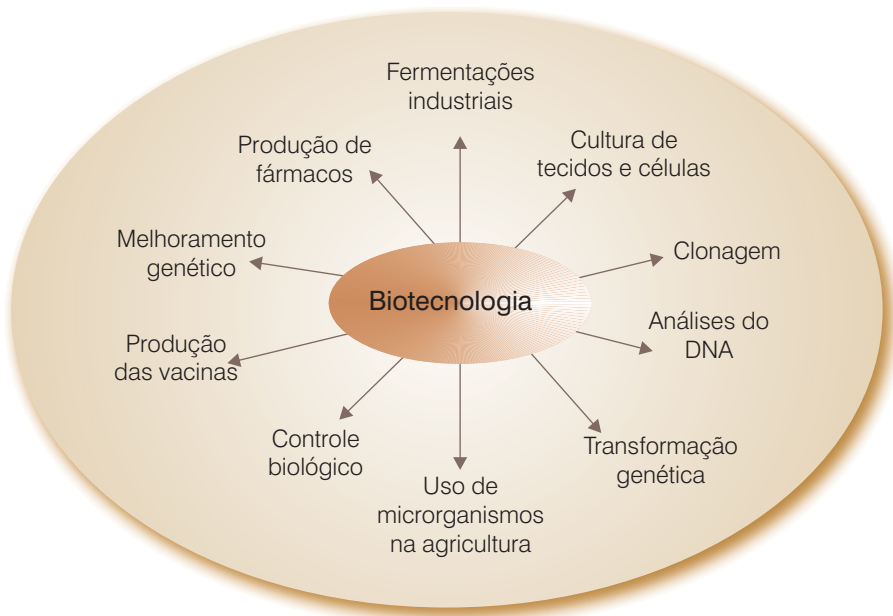


Fig. 4. Principais técnicas relacionadas à biotecnologia.

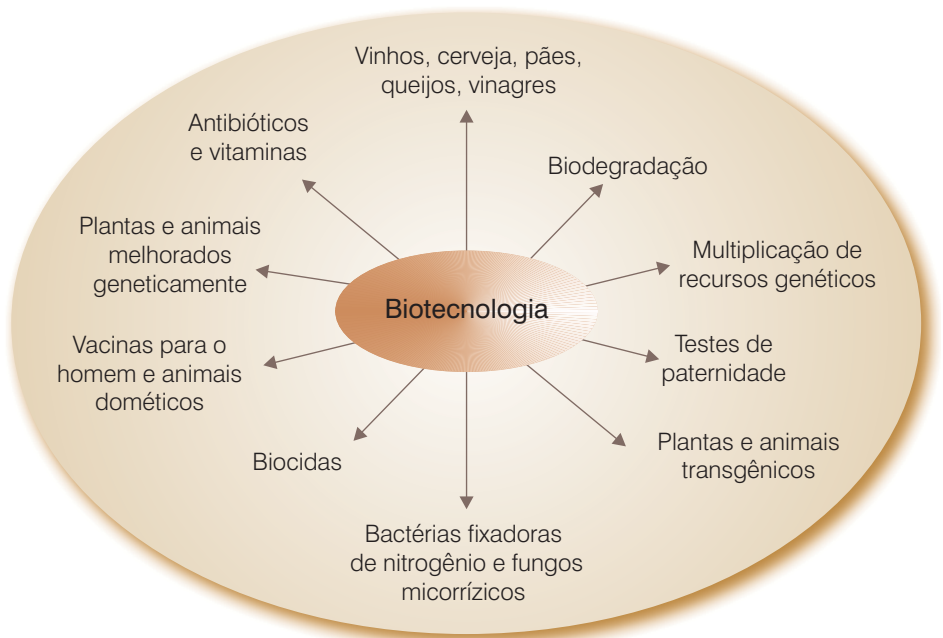


Fig. 5. Principais produtos da biotecnologia.

A transformação genética, como uma das técnicas da biotecnologia moderna, é definida como sendo a introdução controlada de ácidos nucléicos (genes) em um genoma receptor por meio da tecnologia do DNA recombinante. O DNA é o constituinte celular que contém a informação genética responsável por todas as características (fenótipo) de determinado organismo, sendo a base do dogma central da biologia molecular (Fig. 6).

A informação genética do DNA é herdada dos parentais depois do cruzamento entre eles. Os melhoristas de plantas e de animais utilizam-se dessa capacidade de cruzamento para gerar novos organismos com características fenotípicas de interesse. Aproximadamente 50 % do aumento da produtividade das culturas de soja, milho, arroz e trigo é atribuído a combinações gênicas no DNA originadas de cruzamentos realizados em programas de melhoramento genético. Esses cruzamentos somente podem ser feitos entre organismos da mesma espécie ou de espécies muito relacionadas geneticamente, em virtude da barreira estabelecida pela compatibilidade sexual. Essa barreira é

rompida pela transformação genética, abrindo novas possibilidades para o melhoramento genético. Mediante a transformação, é possível transferir, para as plantas, genes isolados de plantas de outras espécies ou mesmo de microrganismos e de animais, o que pode trazer vantagens para a agricultura, meio ambiente, medicina e também para a pesquisa básica no estudo da informação genética. A transformação genética amplia consideravelmente a disponibilidade de genes desejáveis e diminui o tempo gasto para obtenção das plantas melhoradas. A importância e os avanços das pesquisas com os transgênicos e a engenharia genética é o tema central do Capítulo 2.

Diferentes técnicas de transformação genética foram estabelecidas, recentemente, com o desenvolvimento da cultura de tecidos e da engenharia genética. Essas técnicas podem ser divididas em duas categorias: indireta e direta e são baseadas no procedimento para a transferência de genes.

Na transferência indireta, para realizar a transformação, utiliza-se um vetor, como *Agrobacterium tumefaciens* e *Agrobacterium rhizogenes* (Fig. 7). Esses vetores são bactérias que

possuem a capacidade de transferir naturalmente para as plantas parte de seu DNA, induzindo-as a sintetizar substâncias para seu crescimento. Depois dessa descoberta, cientistas alteraram o DNA da bactéria por

engenharia genética, retirando os genes nocivos à planta para colocar no lugar os genes de interesse, mantendo-se a capacidade de transferência do DNA da bactéria para a planta.

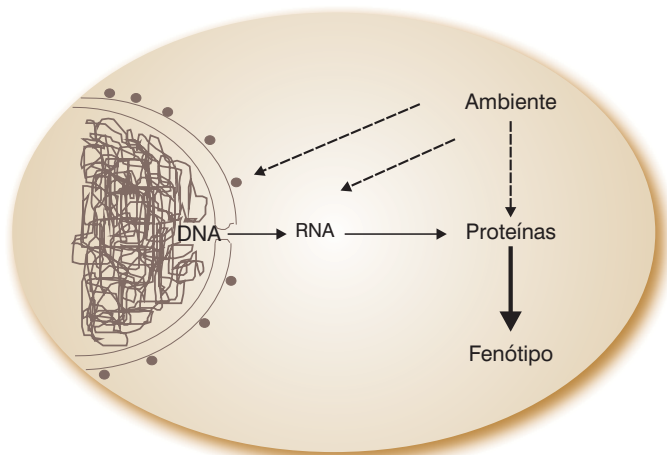


Fig. 6. DNA como base do dogma central da biologia molecular.

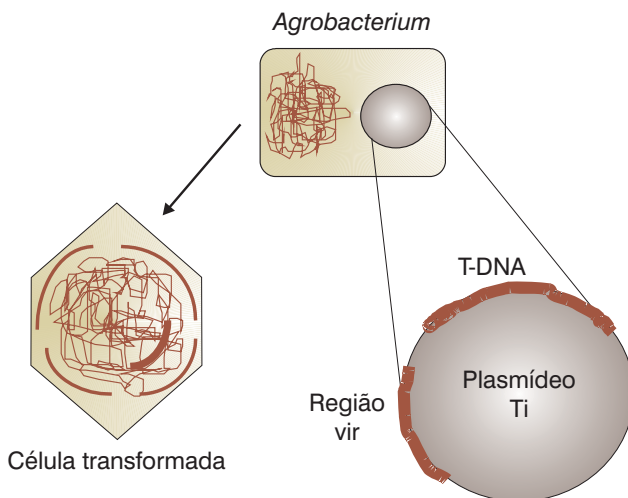


Fig. 7. Transferência indireta.

Na transferência direta, são usados métodos físicos ou químicos que objetivam romper a barreira da parede celular e(ou) da membrana plasmática para a livre penetração do DNA na célula. Numerosos sistemas de transformação direta já foram descritos, entre eles, a aceleração de partículas, polietilenoglicol, eletroporação, lipossomos, micro e macroinjeção (Fig. 8).

O método de aceleração de partículas consiste em “dar um tiro” de DNA nas células-alvo de transformação. Para isso, foram desenvolvidos aparelhos de alta pressão a gás que “empurram” micropartículas de ouro ou tungstênio cobertas com o DNA de interesse para as células-alvo. Essas partículas penetram nas células e liberam o DNA, que é integrado ao genoma da célula. Os métodos de transformação por polietilenoglicol e eletroporação utilizam principalmente protoplastos (células vegetais sem a parede celular), que ficam em contato com o DNA de interesse. O uso de um “detergente” (polietilenoglicol) ou de pulsos elétricos (eletroporação) induz a formação de poros na

membrana celular, permitindo a entrada do DNA e sua integração ao genoma. A microinjeção permite a introdução do DNA diretamente dentro do núcleo. Entretanto, é uma técnica que exige muito treinamento para a manipulação do aparelho, sendo utilizada, sobretudo, para a transformação de células de animais.

Além do método de transformação propriamente dito, outras etapas estão envolvidas na obtenção de um organismo transgênico, como o isolamento e a caracterização do gene de interesse, a construção do cassete de expressão, a introdução e a incorporação do gene, a regeneração e a seleção das células transformadas, a aclimação e os diferentes testes genotípicos e fenotípicos com os transgênicos. Essas etapas envolvem tecnologias de engenharia genética e também a cultura de tecidos. Para realizar a transformação genética de determinada espécie, é essencial que todo o processo de regeneração e de seleção das células transformadas mediante a cultura de tecidos esteja otimizado (Fig. 9). Diferentes estratégias podem ser utilizadas em cada etapa

da transformação genética, sendo que a escolha da mais adequada depende da espécie, do tipo de explante usado e do objetivo da transformação.

Logicamente, a tecnologia de transformação genética não se encerra com a obtenção do transgênico que expresse a característica-alvo. Para que o transgênico seja efetivamente incorporado ao sistema produtivo, é necessário que ele não apresente riscos à saúde e ao ambiente. Portanto, rigorosos

testes devem ser realizados em laboratório, casa de vegetação e no campo (Fig. 10), bem como as várias normas de segurança devem ser respeitadas. Embora a base do trabalho de avaliação de riscos seja a mesma, não se pode fazer generalizações, pois cada transgênico e sua utilização apresentam especificidades que devem ser conhecidas, caracterizadas e sempre levadas em consideração. Portanto, para a liberação, cada transgênico deve ser avaliado individualmente.

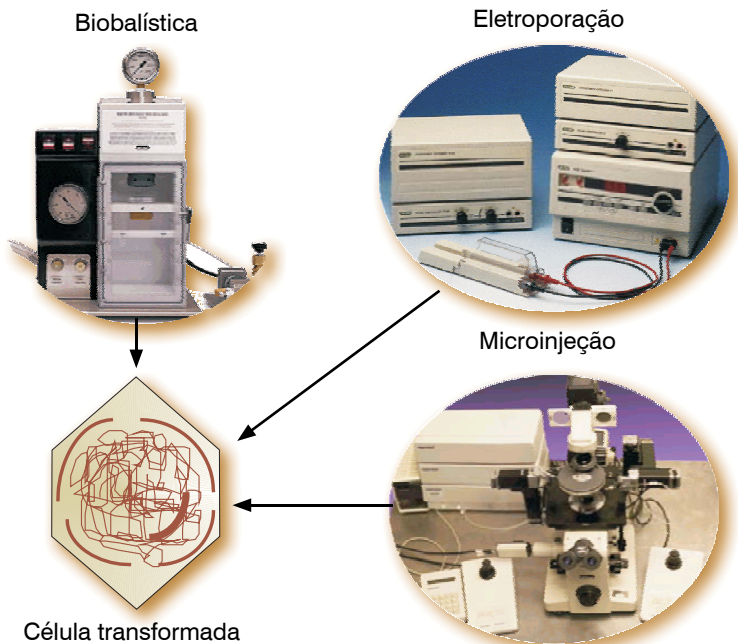


Fig. 8. Métodos de transformação direta.

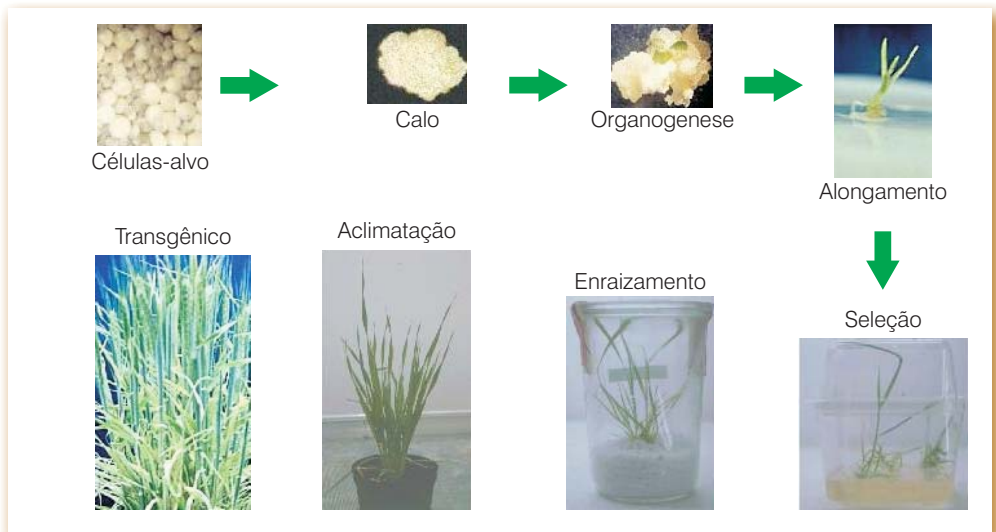


Fig. 9. Regeneração e seleção de células transformadas mediante técnica de cultura de tecidos.



Fig. 10. Testes de plantas transgênicas no laboratório, casa de vegetação e campo.

Todas as etapas para obtenção de transgênicos são regulamentadas pela lei. Existe um arcabouço legal (Fig. 11) e uma nova Lei de Biossegurança, sancionada no dia 24 de março de 2005, os quais serão detalhados no Capítulo 6.

De modo geral, os riscos vão desde a fase laboratorial até o destinatário final do produto, passando por danos ao ecossistema. Entre os principais cuidados, podem-se citar o fluxo gênico, a segurança

alimentar, a criação de novas pragas e plantas daninhas, a produção de substâncias tóxicas a organismos não-alvo, as perturbações de comunidades bióticas, os efeitos adversos a processos dos ecossistemas. Todos os riscos devem ser considerados na análise caso a caso de cada transgênico. Nos capítulos 3, 4 e 5, são relatadas mais informações sobre a biossegurança dos transgênicos.

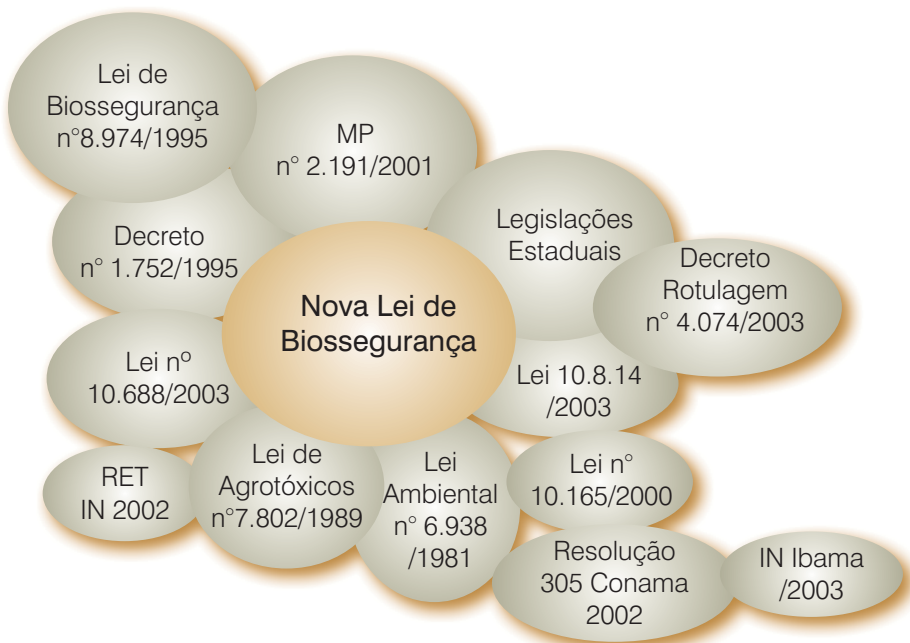


Fig. 11. Arcabouço legal para obtenção de transgênicos.

Na Embrapa, existe uma rede de pesquisa para estudar a biossegurança de quatro transgênicos. O propósito da Embrapa é gerar conhecimentos na área de biossegurança considerando todos os riscos potenciais dos transgênicos relacionados à saúde humana e ao meio ambiente. Tais conhecimentos vão municiar os tomadores de opinião, desenvolvendo protocolos e métodos para uma avaliação eficiente dos riscos. A rede de biossegurança da Embrapa, além de trabalhar diretamente na questão de biossegurança, tem como função capacitar o Estado para atuar efetivamente nessa nova área do conhecimento. Nos capítulos 7, 8, 9 e 10, são relatadas mais informações sobre o trabalho realizado na Embrapa e, particularmente, na Embrapa Cerrados.

Considerando todos os cuidados com a biossegurança de transgênicos, até o momento, os produtos desenvolvidos com base nessas técnicas na área de fármacos e agricultura foram produzidos e comercializados sem evidência de danos ao

homem ou ao meio ambiente e trouxeram, via de regra, benefícios à sociedade. Entre os benefícios dos transgênicos, podem-se citar aqueles relacionados à agricultura (plantas tolerantes a pragas, doenças e herbicidas, com maior tempo de prateleira, mais produtivas, tolerantes a áreas pouco adaptadas ao cultivo e com maior valor nutricional); à medicina (produção de vacinas e fármacos em planta, aumento da produção de compostos terapêuticos) e à pesquisa básica (entendimento dos processos de armazenamento, expressão e regulação da informação genética) o que traria benefícios a produtores, consumidores e também ao meio ambiente. Na Fig. 12, estão alguns exemplos de plantas transgênicas.

Existem diferentes explicações para a pressão contra os transgênicos como questões comerciais, interesses de mercados ligados a indústrias de agroquímicos e a desinformação.

As informações repassadas para a sociedade sobre a biotecnologia moderna, muitas vezes, são deturpadas por ideologias, medo,

sensacionalismo e pela própria desinformação. Atualmente, a mídia está sendo bombardeada com inúmeras reportagens sobre a biotecnologia e os produtos transgênicos. Esse assunto é, às vezes, vulgarizado, visto que políticos, advogados, jornalistas e até sindicalistas estão falando sobre um tema que é essencialmente técnico. Nesse sentido, é necessária leitura muito crítica sobre todas as reportagens que envolvem a biotecnologia e os produtos transgênicos. Certas perguntas devem ser feitas: Quem escreveu o artigo?, Qual o sistema estudado?, Qual metodologia foi utilizada?, Quais os interesses envolvidos?, Quais os pontos negativos e positivos?, A reportagem é baseada em critérios técnicos e científicos?

É inquestionável que a biotecnologia, incluindo as tecnologias de transformação genética, é hoje uma das ferramentas de grande importância para o desenvolvimento de uma

agricultura mais produtiva, saudável e sustentável, menos dependente do uso de agroquímicos, além de propiciar benefícios a diferentes setores da sociedade. A evolução da ciência biotecnológica está caminhando a passos largos e pode-se dizer que a biotecnologia moderna ainda é uma criança, considerando todas as potencialidades e o que ainda vai ser descoberto. Nesse sentido, é estratégico para o Brasil aumentar o investimento em ciência e tecnologia e desobstruir tudo o que tem dificultado as pesquisas. Tais pesquisas têm assumido uma importância cada vez maior nas tomadas de decisão sobre todos os assuntos relativos a transgênicos. Assim, é necessário que a sociedade não seja contra a biotecnologia e os transgênicos, mas sim contra tudo o que dificulta as pesquisas como o baixo investimento em ciência e tecnologia e processos altamente burocráticos que impedem o seu andamento.



Fig. 12. Alguns exemplos de plantas transgênicas: soja tolerante a herbicidas; milho e algodão resistentes a insetos; feijão, mamão e batata resistentes a vírus; tomate e alface resistentes a fungos; arroz, brócolis, milho e tomate com melhores qualidades nutricionais; tomate com maior tempo de prateleira; plantas ornamentais com características diferenciadas.



CAPÍTULO 2

***ENGENHARIA GENÉTICA –
ESTADO DA ARTE***

FRANCISCO JOSÉ LIMA ARAGÃO

O melhoramento de plantas iniciou-se por volta de 8 mil a 10 mil anos atrás quando o homem pré-histórico começou a ter as primeiras tentativas bem-sucedidas de cultivo. Desde então, o homem vem domesticando as plantas, escolhendo aquelas mais adequadas ao cultivo, melhores, maiores e mais bonitas para sua alimentação e para a produção de fibras. Essa seleção, associada às necessidades de plantio, cultivo, colheita e armazenamento, exerceu uma pressão seletiva nas espécies cultivadas, diferenciando as linhagens cultivadas de seus parentes silvestres.

No início do século XX, com a redescoberta das leis da hereditariedade, anteriormente formuladas por Gregor Mendel em 1865, o melhoramento de plantas teve grande impulso e, durante o último século, transformou-se em uma disciplina bastante complexa. Novas técnicas foram incorporadas ao melhoramento genético e contribuíram bastante para diminuir

o tempo necessário para obter novas variedades, bem como para gerar novas fontes de variabilidade genética. Entre essas tecnologias, pode-se mencionar a indução de mutação por tratamentos químicos ou físicos.

Com o avanço do conhecimento em genômica, novas ferramentas advindas da biologia celular e molecular têm sido adicionadas para direcionar os cruzamentos controlados, com o uso de marcadores moleculares e, finalmente, transferir genes entre espécies sexualmente incompatíveis, com o uso da engenharia genética, o que tem permitido ampliar as possibilidades de estratégias que podem ser utilizadas pelos programas de melhoramento.

Os principais objetivos do melhoramento genético são: resistência a doenças e a insetos; adaptação aos estresses ambientais; e melhoria da qualidade nutricional. No entanto, o objetivo mais importante é o

aumento da segurança no cultivo de plantas, ou seja, o incremento da probabilidade de uma colheita com sucesso. Nesse sentido, plantas mais resistentes a pragas, mais produtivas e nutricionalmente melhoradas e tolerantes a estresses ambientais, como seca, frio e solos salinos, contribuem significativamente para a segurança alimentar da sociedade, direta ou indiretamente dependente da produção agrícola.

A engenharia genética, que permite a manipulação do material genético dos organismos, surgiu em 1972, quando cientistas da Universidade de Stanford, nos Estados Unidos, conseguiram ligar seqüências de DNA de *Escherichia coli* a do *Simian papiloma virus*. Em virtude desse resultado, o líder do projeto, Dr. Paul Berg, ganhou o Prêmio Nobel em 1980. Como conseqüência dessas pesquisas, o primeiro organismo transgênico *E. coli*, contendo seqüências de DNA de *Xenopus laevis*, foi produzido em 1973. Com isso, abriram-se as portas para transferir certas características próprias de um organismo para outro. A primeira utilização comercial dessa

nova tecnologia foi a produção de insulina humana em bactéria. Hoje, mais de 400 genes de proteínas com potencial para o uso terapêutico na medicina humana e veterinária já foram obtidos. Mais de 30 desses genes foram introduzidos em organismos transgênicos que geraram medicamentos aprovados e utilizados em várias partes do mundo.

Os genes que controlam ou estão envolvidos na determinação de certas características importantes para a agricultura podem ser isolados de qualquer organismo e introduzidos em qualquer espécie vegetal. Depois de sua clonagem e caracterização, o gene de interesse deverá ser introduzido no genoma da planta hospedeira. A transformação genética de vegetais superiores tem tido avanços consideráveis nas últimas duas décadas. Foram desenvolvidos sistemas de transformação para praticamente todas as espécies agrícolas importantes. Atualmente, os métodos mais empregados são a introdução de genes mediada por *Agrobacterium* e o processo biobalístico.

A obtenção de plantas transgênicas pela introdução de genes, mediada por *Agrobacterium*, baseia-se na capacidade de essas bactérias transferirem seqüências específicas do seu DNA para o genoma vegetal. Esse sistema é relativamente simples e, em muitos casos, eficiente e de baixo custo. Usualmente, os tecidos transformados devem passar por uma etapa de cultura *in vitro*, visando à regeneração de uma planta transgênica completa. Outras espécies de bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium* e *Mesorhizobium* também podem ser utilizadas para transferência de genes exógenos para células vegetais. Além disso, vírus têm sido, igualmente, utilizados para introdução e expressão de genes em plantas (CHUNG et al., 2006).

O sistema biobalístico consiste na utilização de micropartículas, aceleradas a altas velocidades para carrear e introduzir genes em células e tecidos. A partir dessas células e tecidos, podem-se obter plantas transgênicas férteis.

A maior contribuição da engenharia genética para a geração de plantas resistentes a doenças tem sido,

até o momento, o desenvolvimento de estratégias contra doenças virais. Sanford e Johnson (1985) foram os primeiros a trabalhar com a possibilidade de obtenção de resistência a patógenos em plantas geneticamente modificadas contendo seqüências genômicas dos próprios patógenos. Na verdade, esse conceito já vem sendo empregado há pelo menos duas décadas, num processo chamado de premunização, no qual uma planta é propositadamente infectada por uma estirpe fraca de um vírus para obtenção de tolerância contra estirpes fortes (MULLER; COSTA, 1977; COSTA; MULLER, 1980).

Desde o primeiro exemplo, em 1986, de resistência a vírus em uma planta transgênica (fumo) transformada com a capa protéica do vírus-do-mosaico-do-tabaco (*Tobacco mosaic virus* - TMV) (POWELL et al., 1986), mais de uma centena de publicações têm sido apresentadas, relatando a obtenção de plantas geneticamente modificadas resistentes a vírus dos mais variados grupos. Diferentes estratégias têm sido empregadas. Brevemente, pode-se listar: (1)

expressão da capa protéica; (2) uso de satélites; (3) RNA sense e antisense; (4) RNAs defectivos; (5) expressão da replicase; (6) expressão de proteínas do movimento; (7) expressão de anticorpos (*plantbodies*) (WILSON, 1993; TAVLADORAKI et al., 1993; GRUMET, 1995). As estratégias mais utilizadas foram expressão/co-supressão da capa protéica, RNA antisense. Entretanto, mais recentemente, o uso de RNA interferentes (RNAi) tem-se mostrado mais eficiente que todas as outras estratégias, prometendo ser a mais empregada nos próximos anos. Recentemente, obtiveram-se feijoeiros transgênicos altamente resistentes ao vírus BGMV (*Bean golden mosaic geminivirus*) expressando um fragmento de RNA de dupla fita do gene viral *AL1*. Todas essas estratégias têm sido empregadas com maior ou menor grau de sucesso para determinados grupos de vírus. As primeiras plantas disponibilizadas para o setor produtivo foram: o fumo, resistente ao TMV, na China, e o mamoeiro resistente ao vírus-da-mancha-anelar (*Papaya ring spot*

virus - PRSV), nos Estados Unidos. Várias outras plantas têm sido liberadas para comercialização nos Estados Unidos, como abóboras resistentes aos vírus WMV (*Watermelon mosaic virus*), ZYMV (*Zucchini yellow mosaic virus*) e CMV (*Cucumber mosaic virus*) e batatas resistentes aos vírus PLRV (*Potato leafroll virus*) e PVY (*Potato virus Y*). (TEPFER, 2002). A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, a Embrapa Arroz e Feijão, a Embrapa Hortaliças, a Embrapa Mandioca e Fruticultura e a Embrapa Milho e Sorgo têm gerado plantas transgênicas para resistência a viroses. Essas plantas estão sendo avaliadas pelos programas de melhoramento (ARAGÃO et al., 1998, 2001; ROMANO et al., 2001; EHRENFELD et al., 2004; SOUZA JÚNIOR et al., 2005; BONFIM et al., 2007). As avaliações de segurança dessas plantas para o meio ambiente e saúde humana e animal têm sido alvo de estudos na Rede de Biossegurança da Embrapa.

No entanto, as primeiras plantas transgênicas a ocupar grandes áreas são aquelas tolerantes a herbicidas. Essas plantas têm sido utilizadas

no manejo de ervas daninhas que podem ser combatidas mais facilmente com a aplicação de herbicidas não seletivos. Distintos genes têm sido introduzidos para obtenção de resistência a vários herbicidas: atrazina (gene mutado *psbA*), bromoxinil (gene *bnx*), glifoninato de amônio (gene *pat* ou *bar*), sulfunilureas e imidazolinonas (genes *als* ou *ahas* mutados), glifosato (genes *epsps* e *aroA*) e 2,4-D (gene *tda*). Cerca de 71 % das plantas transgênicas cultivadas atualmente contêm genes para resistência a herbicidas (JAMES, 2005).

Grande número de estratégias tem sido gerado para resistência a fungos. Embora ainda não existam plantas em processo de comercialização com essas características, já existem variedades em pré-melhoramento. As principais estratégias utilizadas buscam expressar: (1) proteínas hidrolíticas (glucanases, quitinases); (2) proteínas dos patógenos (defensinas, osmotinas); (3) proteínas heterólogas antimicrobianas (tioninas, defensinas, peroxidases, lisozimas); (4) fitoalexinas (restaverol); (5) além de inibir a virulência do patógeno; e

(6) alterar componentes estruturais (PUNJA, 2001). Recentemente, nosso grupo gerou plantas de alface tolerantes a *Sclerotinia* por meio da expressão do gene do oxalato descarboxilase isolado de *Flamulina velutipes*. A enzima oxalato descarboxilase, presente nas plantas transgênicas, degrada o ácido oxálico, o fator mais importante de virulência do fungo (DIAS et al., 2006).

Várias estratégias têm sido propostas para obtenção de resistência a insetos que são pragas nos sistemas agrícolas. Em geral, essas estratégias estão relacionadas à expressão de genes de proteínas que alteram o ciclo de vida ou são letais para os insetos: inibidores de proteinases, inibidores de amilases, lectinas. Até o momento, a utilização do gene *Bt* (*Cry*) tem sido a estratégia mais eficiente e amplamente utilizada comercialmente. O gene *Bt* codifica uma toxina da bactéria Gram-positiva do solo *Bacillus thuringiensis*. Muitos genes isolados dessa bactéria produzem inclusões cristalinas de um potente inseticida (δ -endotoxinas) chamado de toxina cristal (*Cry*) ou toxina citolítica (*Cyt*). Três espécies de plantas

geneticamente modificadas têm sido comercialmente cultivadas contendo genes *Bt*, milho, algodão e batata. No entanto, genes *Bt* têm sido introduzidos e avaliados em grande número de espécies, tais como: soja, maçã, arroz, álamo, alfafa, cana-de-açúcar, uva e tomate. Cerca de 15 % dos cultivos comerciais com plantas geneticamente modificadas são feitos com plantas que contêm o gene *Bt*, sendo cultivados nos Estados Unidos, China, África do Sul, Indonésia e Austrália.

A redução na aplicação de inseticidas e de aumento de produtividade tem sido observada em vários países em culturas com os genes *Bt* (PRAY et al., 2002; QAIM; ZILBERMAN, 2003). Além disso, tem-se observado que, devido ao menor ataque de pragas em plantas de milho-Bt, ocorreu diminuição de fungos e conseqüente redução da contaminação com micotoxinas (Fig. 1), que são substâncias cancerígenas (CHRISPEEL; SADAVA, 2003).

Na Embrapa, genes *Bt* têm sido isolados e caracterizados. Outros genes e estratégias são avaliados para obtenção de plantas, como

feijão resistente a carunchos e café resistente a brocas.

A engenharia genética tem sido utilizada, também, como ferramenta para tornar as plantas melhoradas nutricionalmente. Os fatores nutricionais têm tido sua concentração aumentada, sobretudo, as vitaminas e aminoácidos essenciais. Por sua vez, fatores antinutricionais são reduzidos ou removidos, como o fitato (myo-inositol hexa-kisfosfato) das sementes. Tal projeto tem sido feito/executado pela Embrapa, que tem buscado obter plantas de soja com menor teor de fitato. Recentemente, foi obtida uma linhagem de soja na qual o gene da mio-inositol 1-fosfato sintase foi silenciado, apresentando redução de 95 % na quantidade de fitato presente nos grãos (NUNES et al., 2006). Há, igualmente, estudos para caracterizar genes de enzimas das rotas metabólicas da síntese de vitaminas (C, A e E) e de óleos essenciais. O projeto mais avançado para o desenvolvimento de plantas com maior teor de vitaminas é do arroz-dourado ou *Golden Rice* (Fig. 2). As sementes desse arroz possuem a capacidade

de acumular cerca de 1,6 mg/g de β -caroteno (pró-vitamina A). Isso ocorre porque, nessas plantas, foram introduzidos dois genes adicionais, da enzima fitoene sintase (PSY) e caroteno desaturase (CRTI) (PAINE et al., 2005; AL-BABILI; BEYER, 2005; GOLDEN

RICE PROJECT, 2007). O consumo desse arroz poderá minimizar problemas de deficiência de vitamina A e, conseqüentemente, os problemas de deficiência visual e cegueira em países em desenvolvimento cuja alimentação é deficiente nessa vitamina.



Fig. 1. Milho resistente a insetos devido à expressão do gene Bt de *Bacillus thuringiensis*. À esquerda, pode-se ver uma espiga de milho transgênico e, à direita, uma espiga de um milho não-transgênico. As espigas do milho transgênico são menos atacadas pelos insetos que, além de causar danos diretos aos grãos, abrem portas para a entrada de fungos. No milho transgênico, observa-se menor ataque de insetos e menor incidência de fungos e, conseqüentemente, redução da contaminação com micotoxinas.

Foto: Francisco J. L. Aragão



Fig. 2. Grãos de arroz dourado (*Golden Rice*) com alto teor de pró-vitamina A (a) e grãos de arroz não transformados geneticamente (b). O arroz dourado tem coloração amarelada em virtude da presença de pró-vitamina A.

Cortesia: The Golden Rice Humanitarian Board.

Os estresses pelo déficit hídrico, baixa temperatura e alta concentração salina nos solos têm sido amplamente estudados. Vários genes têm sido isolados, caracterizados e introduzidos em plantas geneticamente modificadas. Um desses genes, que é um elemento de resposta à desidratação (DRE), demonstrou ter papel importante na regulação da expressão de genes em resposta

ao estresse hídrico e à baixa temperatura. O gene *DREB1A* foi introduzido em algumas espécies, mostrando que pode conferir alta tolerância ao estresse hídrico. A introdução desse gene em trigo pelo CIMMYT (México) demonstrou que as plantas foram capazes de tolerar um período de 15 dias sem irrigação, em condições de campo, apresentando apenas redução no turgor das folhas. Genes *DREB*

têm sido introduzidos em plantas de soja e de trigo com a finalidade de obter plantas mais tolerantes ao déficit hídrico. Experimentos realizados na Universidade de Viçosa demonstraram que a expressão do gene *BiP* (*chaperone binding protein*) isolado de soja em plantas transgênicas de fumo com acumulação da proteína foi capaz de conferir grande tolerância à condição de falta de irrigação por um período de 4 semanas (ALVIM et al., 2001). Esse gene está agora sendo manipulado e introduzido em várias leguminosas, como soja, feijão e feijão-de-corda, na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Um dos produtos mais interessantes gerados pela moderna biotecnologia que chegaram ao mercado são as flores com novos padrões de coloração. Isso é um dos fatores críticos no melhoramento de espécies floriculturais. Cravos transgênicos com flores nas cores púrpura, lavanda e violeta (Fig. 3) foram desenvolvidos e estão atualmente sendo comercializados na América do Norte, Austrália e Japão pela empresa International Flower

Developments, uma “jointventure” das empresas Florigene da Austrália e a japonesa Suntory (CHANDLER, 2003; FLORIGENE FLOWERS, 2007).

As tecnologias para a produção de proteínas heterólogas recombinantes, atualmente comercializadas, têm-se baseado na cultura de células de mamíferos in vitro ou produção em microrganismos. Atualmente, a utilização de plantas e animais transgênicos tem demonstrado ser bastante eficiente para a produção de diferentes proteínas recombinantes em larga escala e a custo reduzido, além de ter recebido aceitação pelas agências de regulamentação. O uso de plantas transgênicas para a produção de proteínas recombinantes deverá prover uma fonte segura, renovável e custo reduzido para a produção de proteínas biologicamente ativas e em larga escala. Além disso, a utilização de plantas permite expressar proteínas bioquimicamente complexas que não podem ser produzidas de forma economicamente viável em cultura de células ou

microrganismos, podendo tornar-se uma opção para o agronegócio. O significativo baixo custo em capital e custos operacionais para a produção de compostos

não processados faz com que as plantas e animais transgênicos tenham um custo mais efetivo do que outros sistemas de produção de proteínas recombinantes.

FLORIGENE
FLOWERS

Ull and Company
Dallas: 954 435 9992
cell: 352 323 4498
Email: sales@florigene.com
www.florigene.com

FLORIGENE Moondust™

FLORIGENE Moonshadow™

FLORIGENE Moonvista™ FLORIGENE Moonshade™ FLORIGENE Moonlite™ FLORIGENE Moonqua™

Fig. 3. Cartaz do dia das mães anunciando a venda de flores de cravos transgênicos modificados para terem novos padrões de coloração. Cortesia de Steve Chandler, Florigene, Austrália.

O desenvolvimento de plantas transgênicas com novas características é considerado atualmente uma das mais importantes aplicações da tecnologia do DNA recombinante. Por meio dessa técnica, as plantas podem ser geneticamente modificadas, basicamente com duas finalidades: (a) melhoramento de suas características agrônômicas e qualidades nutricionais; (b) uso das plantas como reatores biológicos para a produção de biomoléculas (LEITE et al., 1999, 2000).

As plantas apresentam vantagens em potencial em relação aos sistemas baseados em fermentação microbiana, células animais e animais transgênicos. Proteínas heterólogas expressas em bactérias, geralmente, retêm o resíduo de metionina, derivado do sistema de tradução, na sua extremidade amino-terminal. Nas proteínas expressas em eucariotos, entretanto, essa metionina em geral faz parte de sinais de endereçamento específicos, que são retirados quando essas proteínas são introduzidas no compartimento celular para o

qual foram endereçadas. Além disso, a fermentação bacteriana freqüentemente resulta na produção de agregados insolúveis e são necessários gastos significativos para solubilizar esses agregados e recuperar a estrutura da proteína nativa. Por sua vez, o processo de fermentação em si requer grandes investimentos de capital. Ao contrário dos sistemas bacterianos de expressão de proteínas, os sistemas eucarióticos permitem o processamento e a modificação dos produtos. O sistema de expressão eucariótico mais antigo baseia-se na utilização de leveduras, sendo as espécies *Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia pastoris* as mais utilizadas. Esses sistemas são tão econômicos quanto os bacterianos, mas as proteínas sintetizadas são freqüentemente hiperglicosiladas e, quando produzidas em altos níveis, são instáveis e insolúveis.

As plantas transgênicas estão sendo testadas, também, para a produção de antígenos vacinais. Enquanto os sistemas baseados na amplificação de vírus em plantas apresentam capacidade de expressar apenas pequenos domínios antigênicos fusionados

às proteínas da capa viral, plantas transgênicas podem expressar antígenos de maior complexidade estrutural, sem perda de suas propriedades imunogênicas originais. Diversas abordagens têm sido usadas para obtenção de vacinas a partir de plantas, sendo as “vacinas comestíveis” as mais promissoras, pela redução nos custos e facilidade de administração, uma vez que dispensariam todos os recursos necessários para a produção e distribuição das vacinas (LANGRIDGE, 2000). Cerca de 200 produtos (em particular MABs) estão em fase de avaliação clínica e muitos outros em fase de desenvolvimento pré-clínico (fases I e II; veja exemplos em <http://www.lsbc.com>; <http://www.meristem.com>; <http://www.cobento.com>; <http://www.sigmaaldrich.com/>; <http://www.chlorogen.com/>; <http://www.planetbiotechnology.com/>; <http://www.mpt.monsanto.com/>; <http://www.neorx.com/>).

Muitas outras características vêm sendo manipuladas para agregar valor aos cultivos e melhorar seu manejo nos ambientes agrícolas, tais como: obtenção de frutos e

flores com longa vida de prateleira; plantas mais precoces e com arquitetura modificada; aumento da eficiência fotossintética e do uso de nutrientes; flores e frutos com modificação de aroma e sabor; plantas produtoras de biopolímeros; plantas macho-estéreis; modificações metabólicas para produção de substâncias de alto valor agregado (engenharia metabólica); eliminação de componentes alergênicos e antinutricionais.

Embora haja 90 milhões de hectares atualmente plantados com plantas transgênicas, apenas algumas poucas espécies são cultivadas, como soja, algodão, canola e milho. Praticamente, todas as variedades cultivadas são derivadas de linhagens desenvolvidas por grandes empresas multinacionais. As exceções são o mamão resistente ao vírus-da-mancha-anelar, desenvolvido pela Cornell University e cultivado no Havaí desde 1998, e o algodão-Bt resistente à lagarta, desenvolvido pela Academia de Ciências Agrícolas da China e cultivado em várias partes daquele país. Na realidade, o algodão

chinês foi o primeiro exemplo de um produto da moderna biotecnologia totalmente produzido em um país em desenvolvimento. O exemplo chinês mostra que é possível haver desenvolvimento de novas biotecnologias nos sistemas públicos de pesquisa, desde que haja as condições necessárias, tais como pessoal bem formado e treinado, investimento e legislação compatível com a pesquisa agropecuária de ponta. Entretanto, nos últimos 9 anos, estabeleceu-se, em nosso país, um emaranhado de leis e dispositivos infralegais que criaram um quadro extremamente burocrático e complexo, impossibilitando a pesquisa, no campo, com plantas geneticamente modificadas. Apesar de o Brasil contar com um quadro altamente qualificado de cientistas, não tem tido seu potencial plenamente aproveitado em virtude da falta de investimento no sistema público, baixa interação com o setor privado e uma legislação confusa e incompatível com o desenvolvimento científico nessa área. Isso levou o País a um grande atraso em relação a outras nações.

Por causa dessa situação, alguns projetos chegaram a ficar paralisados por aproximadamente 4 anos, o que levou muitas empresas a transferir seus experimentos para países vizinhos, como a Argentina. Há mais de uma década, o plantio de sementes transgênicas já é uma realidade em países de todos os continentes onde se realiza agricultura, sem que qualquer problema para a saúde humana tenha sido observado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005). Espera-se que a nova Lei de Biossegurança (Lei 11.105, de 24 de março de 2005, regulamentada apenas cerca de 8 meses depois pelo decreto 5.591, de 22 de novembro de 2005) solucione alguns dos conflitos anteriores e que o País possa, finalmente, retomar seu lugar de destaque na pesquisa biotecnológica agrícola. É fundamental que o Brasil tenha domínio de uma tecnologia que já é uma realidade em vários países e que tem grandes impactos sociais e econômicos para aqueles países que a dominam ou que estarão totalmente dependentes de tecnologia estrangeiras. Espera-se

que o forte atraso enfrentado pela pesquisa brasileira seja de alguma forma mitigado pela agilidade dos órgãos regulatórios. É preciso que haja equilíbrio na legislação a fim de permitir presteza e celeridade nas avaliações dos processos, para dar competitividade aos cientistas brasileiros, ao mesmo tempo em que ofereça a segurança que a sociedade demanda.

Referências

- AL-BABILI, S.; BEYER, P. Golden Rice: five years on the road: five years to go? **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 565-573, 2005.
- ALVIM, F. C.; CAROLINO, S. M. B.; CASCARDO, J. C. M.; NUNES, C. C.; MARTINEZ, C. A.; OTONI, W. C.; FONTES, E. P. B. Enhanced accumulation of BiP in transgenic plants confers tolerance to water stress. **Plant Physiology**, v. 126, p. 1042-1054, 2001.
- ARAGÃO, F. J. L.; RIBEIRO, S. G.; BARROS, L. M.; BRASILEIRO, A. C. M.; MAXWELL, D. P.; RECH, E. L.; FARIA, J. C. Transgenic beans (*Phaseolus vulgaris* L.) engineered to express viral antisense RNAs showed delayed and attenuated symptoms to bean golden mosaic virus. **Molecular Breeding**, v. 4, p. 491-499, 1998.
- ARAGÃO, F. J. L.; VIANNA, G. R.; ALBINO, M. M. C.; DIAS, B. B. A.; FARIA, J. C. Transgênico resistente a geminivirus. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 19, p. 22-26, 2001.
- 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 Interaction**, v. 20, p. 717-726, 2007.
- CHANDLER, S. F. Commercialization of genetically modified ornamental plants. **Journal of Plant Biotechnology**, v. 5, p. 69-77, 2003.
- CHRISPEELS, M. J.; SADAVA, D. E. **Plants, genes, and crop biotechnology**. 2th ed. Boston: Jones and Bartlett Publishers, 2003. 562 p.
- CHUNG, S.-M.; VAIDYA, M.; TZFIRA, T. *Agrobacterium* is not alone: gene transfer to plants by viruses and other bacteria. **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 1-4, 2006.
- COSTA, A. S.; MULLER, G. W. Tristeza control by cross protection. **Plant Disease**, v. 64, p. 538-541, 1980.
- DIAS, B. B. A.; CUNHA, W. G.; MORAIS, L. S.; VIANNA, G. R.; RECH, E. L.; CAPDEVILLE, G.; ARAGÃO, F. J. L. Expression of an oxalate decarboxylase gene from *Flammulina* sp. in transgenic lettuce (*Lactuca sativa*) plants and

resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*.

Plant Pathology, v. 55, n. 2, p. 187-193, 2006.

EHRENFELD, N.; ROMANO E.; SERRANO, C.; ARCE-JOHNSON, P. Replicase mediated resistance against Potato Leafroll Virus in potato Desirée plants. **Biological Research**, v. 37, p. 71-82, 2004.

FLORIGENE Flowers. Disponível em: <<http://www.florigene.com>>. Acesso em: 19 mar. 2007.

GOLDEN Rice Project. Disponível em: <<http://www.goldenrice.org/index.html>>. Acesso em: 19 mar. 2007.

GRUMET, R. Genetic engineering for crop virus resistance. **HortScience**, v. 30, p. 449-456, 1995.

JAMES, C. **Situação global das lavouras geneticamente modificadas (GM) comercializadas**: 2005. Ithaca: ISAAA, 2005. 46 p. (ISAAA. Relatório, 34).

LANGRIDGE, W. H. R. Edible vaccines. **Scientific American**, v. 283, p. 48-53, 2000.

LEITE, A.; CORD NETO, G.; VETTORE, A. L.; YUNES, J. A.; ARRUDA, P. The prolamins of sorghum, coix and millets. In: SHEWRY, P. R.; CASEY, R. (Ed.). **Seed proteins**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1999. p. 141-157.

LEITE, A.; KEMPER, E. L.; SILVA, M. J.; LUCHESSI, A. D.; SILOTO, R. M. P.;

BONACORSSI, E. D.; EL-DORRY, H. F.; ARRUDA, P. Expression of correctly processed human growth hormone in seeds of transgenic tobacco plants. **Molecular Breeding**, v. 6, p. 47-53, 2000.

MULLER, G. W.; COSTA, A. S. Tristeza control in Brazil by preimmunization with mild strains. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, v. 3, p. 868-877, 1977.

NUNES, A. C. S.; VIANNA, G. R.; CUNEO, F.; AMAYA-FARFÁN, J.; DE CAPDEVILLE, G.; RECH, E. L.; ARAGÃO, F. J. L. RNAi-mediated silencing of the *myo*-inositol-1-phosphate synthase gene (*GmMIPS1*) in transgenic soybean inhibited seed development and reduced phytate content. **Planta**, v. 224, n. 1, p. 125-132, 2006.

PAINE, J. A.; SHIPTON, C. A.; CHAGGAR, S.; HOWELLS, R. M.; KENNEDY, M. J.; VERNON, G.; WRIGHT, S. Y.; HINCHLIFFE, E.; ADAMS, J. L.; SILVERSTONE, A. L.; DRAKE, R. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. **Nature Biotechnology**, v. 23, p. 482-487, 2005.

POWELL, P. A.; NELSON, R. C. de B.; HOFFMANN, N.; ROGERS, S. G.; FRALEY, R. T.; BEACHY, R. N. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. **Science**, v. 232, p. 738-743, 1986.

PRAY, C. E.; HUANG, J.; HU, R.; ROZELLE, S. Five years of Bt cotton in China: the benefits continue. **The Plant Journal**, v. 31, p. 423-430, 2002.

PUNJA, Z. K. Genetic engineering of plants to enhance resistance to fungal pathogens: a review of progress and future prospects. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 23, p. 216-235, 2001.

QAIM, M.; ZILBERMAN, D. Yield effects of genetically modified crops in developing countries. **Science**, v. 299, p. 900-902, 2003.

ROMANO E.; FERREIRA, A.; MONTE, D.; BRAVO-ALMONACID, F.; MELO, P.; MENTABERRY, A.; TORRES, A. C. Extreme resistance to two Brazilian strains of Potato vírus Y (PVY) in transgenic potato, cv. Achat, expressing the PVY^o coat protein. **Horticultura Brasileira**, v. 19, p. 118-122, 2001.

SANFORD, J. C.; JOHNSON, S. A. The concept of parasite-derived resistance: deriving resistance genes from the parasite own genome. **Journal of Theoretical Biology**, v. 115, p. 395-405, 1985.

SOUZA JÚNIOR, M. T.; NÍCKEL, O.; GONSALVES, D. Development of transgenic papayas expressing the coat protein gene from a Brazilian isolate of Papaya ringspot virus (PRSV). **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 360-368, 2005.

TAVLADORAKI, P.; BENVENUTO, E.; TRINCA, S.; DE MARTINS, D.; CATTANEO, A.; GAREFFI, P. Transgenic plants expressing a functional single-chain Fv antibody are specially protected from virus attack. **Nature**, v. 366, p. 469-472, 1993.

TEPFER, M. Risk assessment of virus-resistant transgenic plants. **Annual Review Phytopathology**, v. 40, p. 467-491, 2002.

WILSON, T. M. A. Strategies to protect crop plants against viruses: pathogen-derived resistance blossoms. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, p. 3134-3141, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Modern food biotechnology, human health and development: an evidence-based study**. Geneva: WHO Library, 2005. 79 p.



CAPÍTULO 3

BREVE HISTÓRICO DA BIOSSEGURANÇA DOS TRANSGÊNICOS

SOLANGE ROCHA MONTEIRO DE ANDRADE
FÁBIO GELAPE FALEIRO

BREVE HISTÓRICO DA BIOSSEGURANÇA DOS TRANSGÊNICOS

Durante a evolução, a espécie humana deixou seu comportamento nômade, fixando-se em locais mais protegidos e com maior facilidade de coleta de alimentos. Com o tempo e a necessidade, o homem começou a coletar e a plantar espécies vegetais a partir da identificação e da seleção de indivíduos mais saborosos, saudáveis, produtivos, resistentes, úteis e que apresentassem uniformidade de dormência e de tempo de maturação de semente, procedendo-se à domesticação dessas espécies. Durante esse processo, grande parte das espécies úteis com características agrônômicas reproduzíveis, maior uniformidade e produtividade foram domesticadas de forma empírica (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1993). Entretanto, no início do século XX, após a redescoberta das leis de Mendel, do desenvolvimento dos estudos básicos da hereditariedade e do uso da estatística para seleção e

cruzamento de indivíduos, esses estudos passaram a ser realizados com base científica, originando a ciência e a arte do melhoramento genético. Utilizando técnicas de melhoramento, foram obtidas todas as cultivares de milho, soja, algodão, canola, batata e demais espécies de importância econômica encontradas hoje.

O melhoramento genético vegetal visa à obtenção de plantas mais produtivas, adaptadas a diferentes agroecossistemas, resistentes a doenças e a pragas e com maior qualidade nutricional. O grande desafio atual é produzir alimentos em quantidade e qualidade e, ao mesmo tempo, minimizar o impacto ambiental, reduzindo o uso de defensivos agrícolas. Grandes avanços foram obtidos pelo melhoramento genético com a finalidade de aumentar a produtividade das culturas e, conseqüentemente, diminuir o preço dos alimentos (BARROS et al., 2001).

Esses resultados de produtividade foram possíveis graças à pesquisa agrícola nas áreas de melhoramento genético vegetal e ambiental, assim como o desenvolvimento de técnicas de manejo das culturas. No entanto, apesar desses grandes avanços, o melhoramento convencional continua apresentando algumas dificuldades decorrentes da ligação gênica e da incompatibilidade interespecífica. Para eliminar tais limitações, a transformação genética surgiu como uma ferramenta extremamente útil, visto que permite a introdução de um único gene de interesse diretamente em cultivares-elite. O gene a ser introduzido pode ser oriundo da mesma espécie ou de outras espécies, permitindo, dessa forma, a quebra das barreiras impostas pela incompatibilidade sexual entre as diferentes espécies, além de eliminar o efeito das ligações gênicas indesejadas (ANDRADE, 2003).

A preocupação com a segurança de OGMs surgiu logo no início de sua utilização, quando, na década de 1970, Cohen e colaboradores

(COHEN et al., 1972) transferiram o gene de resistência múltipla a antibióticos para a bactéria *Escherichia coli*. Na mesma época, Jackson e colaboradores (JACKSON et al., 1972) criaram uma molécula híbrida de DNA contendo o genoma completo do Vírus Simia 40 e um segmento de DNA responsável pelo metabolismo da galactose em *Escherichia coli*. A comunidade científica mundial ficou alerta às possibilidades ilimitadas que as novas ferramentas estavam trazendo e seus imprevisíveis impactos na saúde humana e ambiental. Assim, de maneira espontânea, houve praticamente uma moratória no uso de ferramentas da engenharia genética até que houvesse mecanismos adequados para aferir a segurança dessas técnicas para a saúde humana e ambiental. Em 1974, como consequência dessas preocupações, foi realizada a Conferência de Asilomar sobre as Moléculas de DNA Recombinante, ocasião em que foram discutidos os critérios de segurança, principalmente, barreiras biológicas e físicas, para os experimentos com OGMs,

bem como os critérios éticos para regular esses experimentos, além de recomendações para o controle de descartes de material e padronização da metodologia (BERG et al., 1975; BERG, 2004). A partir dessa conferência, diversos organismos internacionais discutiram e desenvolveram regras de biossegurança, cujos fundamentos básicos objetivam assegurar o avanço dos processos tecnológicos e proteger a saúde humana, animal e ambiental.

Um dos momentos relevantes dessas discussões ocorreu em 1992, quando, por iniciativa da Organização das Nações Unidas – ONU, houve a Convenção de Diversidade Biológica – CB, que ficou conhecida como ECO-92. Nesse evento, convencionou-se que todos os países signatários tomassem medidas para preservar a diversidade das espécies nativas e cultivadas, considerando o valor intrínseco dessas espécies como material para desenvolver novo produto de interesse econômico. Assim, nessa convenção, foi reconhecida a soberania de cada país sobre seus recursos genéticos (BRAUN; AMMAN, 2002).

Nos artigos 16 e 19, dedicados à biotecnologia, é requerida uma divisão justa e equitativa dos benefícios gerados pelo uso dos recursos genéticos. Isso inclui meios de prover facilidades e financiamento para a transferência de tecnologias e acesso aberto às informações e técnicas científicas. A soberania sobre os recursos genéticos significa que ninguém pode remover espécies vegetais, animais ou microrganismos de um país sem o prévio consentimento desse país (BORÉM, 2005).

Já o artigo 15 refere-se ao Princípio da Precaução, colocando o seguinte:

com o fim de proteger o meio ambiente, o princípio da precaução deverá ser amplamente observado pelos Estados, de acordo com suas capacidades. Quando houver ameaça de danos graves ou irreversíveis, a ausência de certeza científica absoluta não será utilizada como razão para o adiamento de medidas economicamente viáveis para prevenir a degradação ambiental (MYHR; TRAAVICK, 2002).

Assim, a preocupação com o risco, principalmente em mantê-lo dentro de um grau de segurança aceitável, levou a comunidade internacional a adotar gradativamente o Princípio da Precaução como princípio ético

orientador e jurídico motivador da ação humana. Com isso, a determinação do nível de risco aceitável é uma responsabilidade científica e política, sendo avaliado caso a caso e por cada país (MINARÉ, 2005).

Em 2000, um novo encontro na Venezuela estabeleceu as bases para a normatização internacional do desenvolvimento dos OGMs, em especial, no que tange ao movimento desses organismos vivos entre países. O Protocolo de Cartagena, como ficou conhecido, regulamenta a transferência, a manipulação e o uso de OGMs que podem ter efeito na biodiversidade e saúde humana e, fazendo referência explícita ao Princípio da Precaução, considerando-o como princípio-guia para transferência de OGMs em situações consideradas de potencial risco de redução ou de perda da biodiversidade. Basicamente, o Princípio da Precaução deve ser aplicado quando houver incerteza científica de danos sobre o meio ambiente, e os países devem adotar, nesse caso, procedimentos para prevenir e evitar esses danos (BORÉM,

2005; MYHR; TRAAVICK, 2002; BRAUN; AMMAN, 2002).

Esse protocolo foi ratificado por 50 países em 2002 e, desde essa época, tem sido o alicerce para o desenvolvimento das bases legais e administrativas de biossegurança em diversos países (UNITED NATIONS ENVIRONMENTS PROGRAMME, 2003). Assim, resumidamente, a biossegurança de OGMs estuda os impactos dessas tecnologias por meio de leis, procedimentos e diretivas discutidas mundialmente, porém aplicadas de modo específico em cada país.

Com referência aos impactos sobre a saúde humana e animal, várias instituições ligadas à pesquisa, à saúde humana e ao ambiente buscaram métodos para avaliação de riscos de organismos geneticamente modificados e publicaram documentos orientadores (INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE, 2001; INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS, 2005; FAO, 1996, 2001; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). Com isso, desenvolveram-se os princípios

de equivalência substancial e de precaução e a análise de risco, utilizados como base para os estudos de biossegurança (LAJOLO; NUTTI, 2003).

O termo segurança alimentar surgiu na Europa, a partir da Primeira Guerra Mundial, com a conotação de Segurança Nacional, em virtude da necessidade de formação de *estoques estratégicos de alimentos*, uma vez que a soberania de um país dependia, entre outros fatores, da sua capacidade de auto-suprimento (PONTES et al., 2003). Posteriormente, na Segunda Guerra Mundial, foi agregada a noção do direito humano à alimentação. Na década de 1970, houve um foco na qualidade, principalmente, no que se referia à segurança dos aditivos alimentares. Nos anos 1980, a preocupação era com os resíduos de agrotóxicos e irradiação de alimentos.

Atualmente, a preocupação é com os alimentos transgênicos. Entretanto, apesar de todos esses enfoques, não há registro de um processo de avaliação de segurança alimentar formalmente reconhecido por algum órgão federal de qualquer

país (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1993). No entanto, com a possibilidade de introdução de novas características em uma planta, o fator segurança alimentar passou a receber mais atenção (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1993).

A utilização de estudos toxicológicos convencionais para avaliação de segurança alimentar tornou-se particularmente complicada quando se deparou com a dificuldade de estudar os efeitos dos alimentos irradiados na alimentação animal. Análises com animais eram um dos principais pontos de suporte aos estudos de compostos como pesticidas, fármacos, produtos químicos e aditivos alimentares. Esses elementos são bem caracterizados, de pureza conhecida, não possuem valor nutritivo e apresentam baixa exposição humana. Os estudos eram realizados com doses superiores às esperadas para os níveis de exposição humana, visando a identificar qualquer efeito adverso de importância para a saúde (ORGANIZATION FOR

ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1993).

No entanto, a utilização desses estudos para avaliação de alimentos é limitada. Os alimentos são misturas complexas de compostos e caracterizados por uma grande variação na composição química e no valor nutricional. Assim, nos estudos toxicológicos, deve-se levar em conta a necessidade da manutenção do balanço nutricional, bem como evitar os efeitos não relacionados ao material analisado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação – FAO (1996), as considerações em relação à segurança alimentar de OGMs incluem:

1. As conseqüências diretas de alteração nos níveis de expressão de genes existentes pela introdução do novo gene ou modificações genéticas causadas por ele.
2. As conseqüências diretas (por exemplo, efeitos antinutricionais, tóxicos ou alergênicos) da presença, nos alimentos, da proteína codificada pelo gene introduzido.
3. As conseqüências indiretas dos efeitos de qualquer (quaisquer) novo(s) produto(s) ou níveis alterados de produto(s) já existente(s) no metabolismo do organismo, levando à presença de novos compostos ou níveis alterados de compostos já existentes.
4. As conseqüências das mutações causadas no processo de introdução genética no organismo, tais como a interrupção de seqüências codantes ou controle ou ativação de genes latentes, levando à presença de novos componentes ou níveis alterados de componentes existentes.
5. As conseqüências da transferência do gene para a flora gastrointestinal pela ingestão do alimento geneticamente modificado (AGM) e (ou) alimentos derivados deles.
6. Potencial efeito adverso na saúde associado ao microrganismo geneticamente modificado pelo alimento.

Considerações finais

Pode-se dizer que o cultivo comercial de plantas geneticamente modificadas gerou preocupações referentes ao impacto ambiental que elas poderiam causar. No entanto, essas preocupações foram exaustivamente discutidas em fóruns internacionais, quando se avaliaram os verdadeiros riscos que uma nova tecnologia pode trazer, confrontando-os com os benefícios e com as tecnologias existentes. Com isso, vários órgãos internacionais instituíram normas a ser seguidas, principalmente, no que se refere ao impacto sobre a biodiversidade, embora cada país tenha sua própria legislação a esse respeito.

Referências

ANDRADE, S. R. M. **Transformação de plantas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. 28 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 102).

BARROS, J. R. M. de; RIZZIERI, J. A. B.; PICCHETTI, P. **Os efeitos da pesquisa agrícola para o consumidor**: relatório final. São Paulo: FIPE, 2001. Disponível em: <<http://www22.sede.embrapa.br/eventos/simpacto/barros/barros.pdf>>. Acesso em: 17 nov. 2004.

BERG, P. **Asilomar and recombinat DNA**. 2004. Disponível em: <http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/articles/berg/index.html>. Acesso em: 10 nov. 2006.

BERG, P.; BALTIMORE, D.; BRENNER, S.; ROBLIN III, R. O.; SINGER, M. F. Summary statement of the Asilomar Conference on Recombinat DNA Molecules. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 72, p. 1981-1984, 1975.

BORÉM, A. Impactos da biotecnologia na biodiversidade. **Biociência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 34, p. 22-28, 2005.

BRAUN, R.; AMMAN, K. Biodiversity: the impact of biotechnology. **Encyclopedia of Life Support Systems**, Oxford, p. 1-17, 2002.

COHEN, S. N.; CHANG, A. C. Y.; HSU, L. Nonchromosomal antibiotic resistance in bacteria: genetic transformation of *Escherichia coli* by R-factor DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 69, p. 2110-2114, 1972.

FAO. **Biotechnology and food safety**. Rome, 1996. 27 p. (FAO. Food and Nutrition Paper, 61). Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/biotechnology.pdf>>. Acesso em: 16 maio 2005.

FAO. **Evaluation of allergenicity of genetically modified foods**. Rome, 2001. 27 p. (Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology). Disponível em: <<http://www.fao.org/es/ESN/food/pdf/allergygm.pdf>>. Acesso em: 16 maio 2005.

INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. **Expert report on biotechnology food**: background, safety assessment of biotech foods. Disponível em: <<http://www.ift.org/pdfs/expert/biotech/iftbiotechsafety-b.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2005.

INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE. **Method development in the relationship to regulatory requirements for the detection of GMOs in the food chain**. Belgium, Brussels, 2001. Disponível em: <<http://www.gmsciencedebate.org.uk/topics/forum/pdf/0080f.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2005.

JACKSON, D. A.; SYMONS, R. H.; BERG, P. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of simian virus 40: circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and galactose operon of *Escherichia coli*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 69, p. 2904-2909, 1972.

LAJOLO, F. M.; NUTTI, M. R. **Transgênicos**: bases científicas da sua

segurança. São Paulo: SBAN, 2003. 112 p.

MINARÉ, R. L. O princípio da precaução. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 34, p. 65-66, 2005.

MYHR, A. I.; TRAAVIK, T. The precautionary principle: scientific uncertainty and omitted research in the context of GMO use and release. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, v. 15, p. 73-86, 2002.

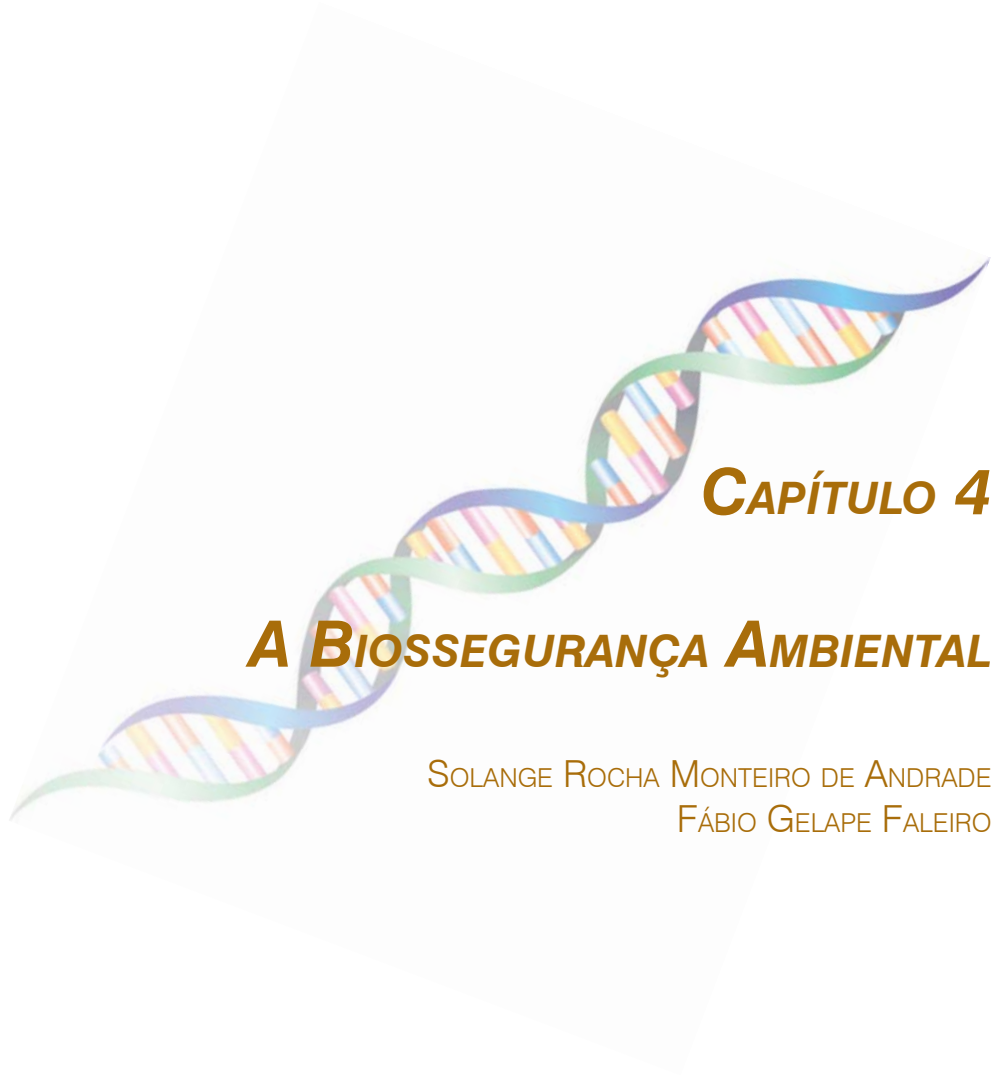
ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Safety evaluation of foods produced by modern biotechnology**: concepts and principles. Paris, 1993. Disponível em: <<http://www.oecd.org/dataoecd/57/3/1946129.pdf>>. Acesso em: 30 maio 2005.

PONTES, A.; SANTOS, P.; ALEIXO, L. F. Segurança de alimentos geneticamente modificados. In: BORÉM, A.; GIÚDICE, M. P.; COSTA, N. M. B. (Ed.). **Alimentos geneticamente modificados**. Viçosa: UFV, 2003. p. 95-105.

UNITED NATIONS ENVIRONMENTS PROGRAMME. **Highlights of some of the basic requirements of the Cartagena Protocol on Biosafety**. 2003. Disponível em: <<http://www.biodiv.org/doc/notifications/2003/ntf-2003-127-cop-en.pdf>>. Acesso em: 16 nov. 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION.
**Safety aspects of genetically modified
foods of plant origin.** Rome, 2000. 36
p. (Report of a joint FAO/WHO Expert

Consultation on Foods Derived from
Biotechnology). Disponível em: <[http://
www.fao.org/es/ESN/food/pdf/gmreport.
pdf](http://www.fao.org/es/ESN/food/pdf/gmreport.pdf)>. Acesso em: 16 nov. 2004.



CAPÍTULO 4

A BIOSSEGURANÇA AMBIENTAL

SOLANGE ROCHA MONTEIRO DE ANDRADE
FÁBIO GELAPE FALEIRO

A BIOSSEGURANÇA AMBIENTAL

Introdução

As grandes preocupações com as plantas transgênicas no ambiente se referem principalmente aos impactos das tecnologias Bt (resistência a insetos) e HT (tolerância a herbicidas). Segundo Carpenter et al. (2002), que realizaram um estudo comparativo baseado em referências bibliográficas, são nove as principais considerações a respeito do impacto ambiental das lavouras de soja, milho e algodão transgênicos, as quais podem ser resumidas da seguinte maneira: (a) risco da variedade cultivada ou silvestre “transformada” tornar-se uma espécie daninha invasora; (b) desenvolvimento de resistência pelo uso maciço da tecnologia; (c) possibilidade de escape gênico (transferência vertical e horizontal); (d) efeito adverso sobre espécies não-alvo e benéficas; (e) impactos nos sistemas de produção vegetal (CARPENTER et al., 2002; MARGARIDO, 2003).

Risco de desenvolvimento de “superplantas” daninhas

O aparecimento de plantas daninhas resistentes a herbicidas começou a ser documentado no início dos anos 1970, principalmente para os herbicidas atrazina e paraquat, bem como outros de larga escala (SANDERMANN, 2006). Nessa época, o glifosato foi classificado dentro do grupo com baixa probabilidade de induzir resistência, quando comparado a outros herbicidas contendo sulfoniluréias e imidazolinonas, que foram classificados de alto risco. Já foram descritas 90 espécies de plantas daninhas para o desenvolvimento de resistência a herbicidas que induzem a inibição de acetolactato sintase (ALS) e 65 para resistência a atrazina. Nesses 30 anos de uso de glifosato, a resistência natural já foi descrita, no entanto apenas para 16 espécies (Tabela 1) (SANVIDO et al., 2006). Essa questão será mais

bem discutida no próximo tópico. Acredita-se que essa baixa indução de resistência é em virtude das propriedades químicas do herbicida e do seu modo de ação (SANVIDO et al., 2006).

Segundo Sandermann (2006), a evolução de biótipos de plantas daninhas resistentes pode ocorrer por três processos: (1) mutantes dentro da população; (2) transferência de genes entre as populações ou espécies (introgressão); (3) mecanismos de resistência de genes únicos ou múltiplos. Entretanto, as experiências com o cultivo de organismos geneticamente modificados – OGMs tolerantes a herbicidas estão demonstrando que o aparecimento de plantas daninhas resistentes a herbicidas ocorre não por modificação genética, mas pelo manejo da cultura e do herbicida utilizado pelo produtor (SANVIDO et al., 2006). Segundo Heap (1997), para evitar o desenvolvimento de plantas daninhas resistentes, o produtor deve cultivar as plantas HT em rotação com cultivares convencionais ou resistentes a diferentes tipos de herbicidas.

Desenvolvimento de resistência pelo uso intensivo da tecnologia

A alta adesão mundial dos produtores ao plantio de soja resistente ao glifosato representou a maior adoção de uma tecnologia na história da agricultura (SANKULA; BLUMENTHAL, 2004). Embora isso demonstre que a tecnologia apresenta grandes vantagens para o agricultor, sucinta também preocupações a respeito da possibilidade de indução de plantas daninhas resistentes ao glifosato pelo uso inadequado da tecnologia. É conhecido que as populações de plantas daninhas são, em geral, heterogêneas. Assim, dentro da população podem ocorrer indivíduos sensíveis ao herbicida e indivíduos mutantes resistentes para essa característica. No entanto, sob uma pressão de seleção pelo uso excessivo de herbicida, essa resistência natural pode dominar a população – ao selecionar os indivíduos resistentes – e, com o tempo, o banco de sementes do solo, sugerindo a ocorrência da indução de resistência na população (SANDERMANN, 2006).

Tabela 1. Espécies de plantas daninhas resistentes ao glifosato.

Ano de divulgação	Espécie de planta daninha	Local de ocorrência	Referência
1984	<i>Convolvulus arvensis</i>	EUA	Ducan e Weller, 1987
1996	<i>Lolium rigidum</i>	Austrália	Heap et al., 2005; Owen e Zelaya, 2005
1998		EUA	
2001		África do Sul	
1997	<i>Eleusina indica</i> (L) Gaertn.	Malásia	Heap et al., 2005; Owen e Zelaya, 2005
2000	<i>Amaranthus tuberculatus</i>	EUA	Owen e Zelaya, 2005
2001	<i>Abtilon theophrasti</i>	EUA	Duke, 2005; VanGessel, 2001
2000	<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronq	EUA	Heap et al., 2005; Owen e Zelaya, 2005
2001	<i>Lolium multiflorum</i>	Chile	Heap et al., 2005; Owen e Zelaya, 2005
2003		Brasil	
2004		EUA	
2002	<i>Dipiclitera chinensis</i>	Leste da Ásia	Owen e Zelaya, 2005
2003	<i>Plantago Lanceolata</i>	África do Sul	Heap et al., 2005
2003	<i>Conyza bonaneriensis</i> L.	África do Sul	Heap et al., 2005
2004		Espanha	
2004	<i>Commelina communis</i>	EUA	Owen e Zelaya, 2005
2004	<i>Ipomea</i> ssp.	EUA	Owen e Zelaya, 2005
2004	<i>Chenopodium album</i>	EUA	Owen e Zelaya, 2005
2004	<i>Ambrosia artemisifolia</i> L.	EUA	Heap et al., 2005
2005	<i>Amaranthus palmeri</i> S, Wats	EUA	Heap et al., 2005

Fonte: Adaptado de Cerdeira e Duke (2006) e Sandermann (2006).

O glifosato é um herbicida de largo espectro e baixo impacto ambiental e praticamente não causa danos às espécies cultivadas, por isso sempre apresentou boa aceitação entre os produtores. Entretanto, nos Estados Unidos, sua utilização cresceu seis vezes de 1992 a 2002, principalmente em virtude da adoção dos OGMs (CERDEIRA; DUKE, 2006). Embora

tenha sido classificado como um herbicida com baixo risco de induzir o desenvolvimento de resistência em plantas daninhas, essa resistência tem sido demonstrada para algumas espécies (Tabela 1). Porém, somente três casos foram associados ao uso de OGMs (CERDEIRA; DUKE, 2006; SANDERMANN, 2006). No Brasil, não há descrição de espécies

resistentes ao glifosato, mas algumas são de difícil controle pelo herbicida: *Chamaesyce hirta*, *Commelina Benghalensis*, *Spermacoce latifolia* Aubl, *Euphorbia heterophylla*, *Richardia brasiliensis* Gomes e *Ipomea* ssp. (CERDEIRA; DUKE, 2006).

Assim como a resistência a herbicidas, a principal ameaça referente às plantas Bt, ou seja, resistentes a insetos, é a potencial indução da resistência na população de insetos selvagens em decorrência da pressão de seleção pelo uso intensivo dessas plantas. Essa seleção poderia ocorrer por mutações naturais ou sintéticas, perda de proteases que ativam a toxina no trato intestinal do inseto, alta atividade proteolítica de enzimas degradadoras das toxinas e outros (CHRISTOU et al., 2006). Entretanto, após nove anos de liberação comercial do algodão e cinco anos do milho, não foi observado desenvolvimento de resistência nos insetos-alvo (CHRISTOU et al., 2006; OMOTO; MARTINELLI, 2004). Segundo Christou et al. (2006), o plantio de cultivares convencionais com cultivares Bt (refúgios) é um manejo altamente recomendado e

utilizado, sendo a provável hipótese da ausência de resistência verificada até o momento.

A manutenção de refúgios permite que insetos susceptíveis sobrevivam e cruzem com os insetos resistentes, diluindo a quantidade dos alelos de resistência e evitando o crescimento da quantidade de indivíduos homozigotos para esse alelo (CHRISTOU et al., 2006; OMOTO; MARTINELLI, 2004). Outras possibilidades para não detecção da resistência são: (1) possibilidade do inseto possuir mais de um alvo interno para a toxina; (2) baixa adaptação ao ambiente do inseto resistente; (3) a resistência verificada em condições de laboratório não reflete a realidade dos campos experimentais dos OGMs (CHRISTOU et al., 2006; OMOTO; MARTINELLI, 2004).

Resistência por fluxo gênico

A introgressão é o movimento de um gene ou de genes de uma planta doadora para outra sexualmente compatível de um genótipo diferente (espécies,

variedades ou biótipos diferentes) por polinização seguida de cruzamentos entre o híbrido dentro da população até a estabilidade do gene na população (CERDEIRA; DUKE, 2006). Esse fluxo gênico ocorre se as plantas doadoras e receptoras crescerem perto o suficiente para a troca de pólen, pois, embora o pólen possa viajar longas distâncias, seja por meio do vento, insetos ou outros animais polinizadores, sua viabilidade decresce com o tempo e as condições ambientais. Ademais, para ocorrer o fluxo gênico, é necessário que ambas as espécies/variedades estejam na época de floração e receptivas para o pólen (CERDEIRA; DUKE, 2006).

Segundo Sanvido et al. (2006), existe um consenso dentro da comunidade científica que pode haver fluxo gênico entre as variedades transgênicas e as espécies selvagens compatíveis sexualmente. Estudos com canola no Canadá demonstraram essa possibilidade. No entanto, esse fluxo ocorre na mesma proporção apresentada pelas espécies não-transgênicas. A questão é se esse transgene causaria um impacto

relevante na população selvagem. No caso da canola resistente a herbicida, cultivada há anos no Canadá, não foram encontradas evidências de que esse cultivo tenha espalhado resistência na população selvagem de canola. Embora estudos tenham demonstrado o aparecimento de resistência dupla e tripla e herbicidas dentro da população selvagem de canola, isso não conduziu ao aparecimento de voluntárias multirresistentes, sugerindo que o controle químico e (ou) o manejo das plantas daninhas tem sido eficiente para evitar esse problema (SANVIDO et al., 2006).

A preocupação principal da indução de resistência ao glifosato era a possibilidade de haver transferência mediada por pólen, ou seja, a ocorrência de fluxo gênico ou introgressão. No entanto, o aparecimento de espécies resistentes está ocorrendo como consequência da pressão de seleção pelo uso exagerado de glifosato (CERDEIRA; DUKE, 2006; SANDERMANN, 2006). Entretanto, especialistas não consideram esse efeito catastrófico, pois pode ser evitado pelo manejo correto do

herbicida e pela utilização de outros herbicidas ou tratos culturais, conforme verificado no caso da canola (SANVIDO et al., 2006; CERDEIRA; DUKE, 2006).

Em ambientes naturais, em 10 anos de plantio de OGMs, não foi observada nenhuma extinção de espécies selvagens pela introgressão de resistência de transgenes dentro da população. No caso de resistência a herbicidas, não é esperado que a introgressão dessa característica confira algum benefício de seleção, pois dificilmente esses genes teriam características seletivas dentro do ambiente natural. No entanto, a resistência a insetos poderia aumentar a adaptação às pragas naturais da população selvagem (SANVIDO et al., 2006). Avaliações do impacto de OGMs na população selvagem são difíceis de ser realizadas, pois envolvem múltiplos aspectos e necessitam de vários anos de estudo.

Efeito em espécies não-alvo e benéficas

O efeito de plantas transgênicas sobre as espécies não-alvo tem sido bastante discutido, principalmente para as plantas

Bt. Espécies não-alvo são definidas como as espécies que não são propósito direto do uso de um pesticida particular (VAN LEEWEN; HERMENS, 1999). A resistência a insetos, característica introduzida nas plantas Bt, é expressa pelas proteínas Cry do *Bacillus thuringiensis* (Bt) e tem como alvo lagartas da ordem lepidóptera, principalmente as espécies *Ostrinia nubilis* (lagarta-européia) e *Diabrotica* spp. (larva-de-diabrotica), para o milho Bt; e *Pectinophora gossypiella*, *Alabama argillacea*, *Helliothis virescens* (lagarta das maçãs) e *Helicoverpa zea* no algodão Bt (BOBROWISKI et al., 2003). Contudo, existe a preocupação sobre seu efeito sobre outras espécies de lepidópteros não-alvo, como a borboleta monarca.

No caso específico de toxidez direta, os organismos não-alvo precisam ingerir a proteína expressa pelas plantas Bt, por meio de uma das seguintes exposições (Fig. 1): (1) ingestão direta de amostras da planta (folhas, pólen); (2) ingestão de insetos alimentados com as plantas Bt; (3) exposição ambiental (resíduos vegetais da plantas Bt no solo) (SANVIDO et al., 2006).

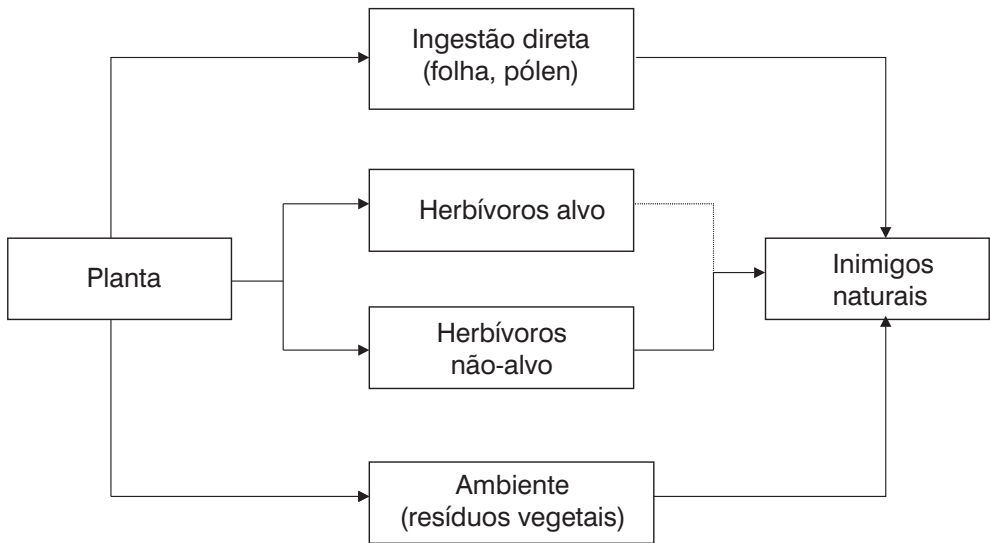


Fig. 1. Rotas de exposição a inimigos naturais de diferentes níveis tróficos a plantas produtoras de proteínas inseticidas.

Fonte: Adaptado de Sanvido et al., 2006.

Resultados de vários estudos realizados nos últimos anos não demonstraram evidências de efeitos provenientes da toxicidade direta da proteína Cry, expressa em plantas Bt sobre os inimigos naturais não-alvo em campos experimentais (SANVIDO et al., 2006). Segundo os autores, existem mais evidências de que as plantas Bt são mais alvo específicas e apresentam menor efeito colateral sobre espécies não-alvo que os inseticidas utilizados atualmente (SANVIDO et al., 2006). Efeitos indiretos sobre os inimigos naturais (predadores) nos plantios de milho Bt ocorreram pela diminuição

da disponibilidade dos herbívoros alvos da tecnologia. No entanto, a maioria dos predadores naturais se alimenta de várias espécies e, no campo, buscam outras espécies para se alimentar quando há uma diminuição de uma espécie particular. Assim, a ocorrência de efeito indireto não está somente relacionada ao plantio do OGM, mas a qualquer manejo para controle da praga, pois todos reduzem a disponibilidade dos insetos alvo e, conseqüentemente, afetam a população de inimigos naturais.

As plantas tolerantes a herbicidas são consideradas sem efeito

direto em espécies não-alvo, pois a tolerância a herbicida é uma característica normalmente expressa em plantas. São também conhecidas por não terem propriedades tóxicas. Entretanto, apresentam impactos ambientais indiretos em razão das alterações nas práticas culturais (SANVIDO et al., 2006).

Um estudo da Farm Scale Evaluations – FSE realizado na Inglaterra demonstrou que houve uma queda da biomassa de plantas daninhas nos campos de beterraba e canola resistentes a herbicidas e, conseqüentemente, diminuiu a densidade de insetos, que, por sua vez, afetaram negativamente a população de pássaros da região. As conclusões desse estudo consideram que o uso de plantas resistentes a herbicida afetam a biodiversidade das regiões rurais (SQUIRE et al., 2003; CHAMPION et al., 2003). No entanto, embora o manejo de plantas resistentes a herbicidas permita um maior controle das plantas daninhas, qualquer sistema de manejo dessas pragas, quando bem aplicado, também terá a mesma conseqüência. Assim, os resultados

são decorrentes de um efetivo sistema de controle das plantas daninhas, podendo ocorrer com outros tipos eficientes de manejo (SANVIDO et al., 2006).

Caso da borboleta monarca

Estudos em laboratório alimentando larvas de borboleta monarca com grandes quantidades de pólen da variedade de milho Bt demonstraram um efeito devastador no crescimento delas e morte após quatro dias de exposição (LOSEY et al., 1999; JESSÉ; OBRYCKI, 2000). No entanto, estudos posteriores levando em consideração a possibilidade de exposição das larvas dessa borboleta ao pólen do milho em condições de campo demonstraram que existe uma diferença temporal entre a época de polinização (disponibilidade de pólen) e a presença da larva em campo (SEARS et al., 2001; OBERHAUSER et al., 2001), bem como uma menor densidade de pólen que a utilizada em laboratório (PLEASANTS et al., 2001; HELMICH et al., 2001). Os diversos autores concluíram que o risco do milho Bt para a borboleta

monarca é negligível, pois os resultados obtidos em laboratório com altas doses de CRY1AB não refletem a disponibilidade de proteína para as borboletas em campo (SANVIDO et al., 2006).

Impactos nos sistemas de produção vegetal

Uma das grandes questões no âmbito ambiental se refere ao impacto dessas culturas na utilização de pesticidas, ou seja, o *plantio das culturas OGMs atuais aumenta ou diminui o uso de pesticidas?*

Segundo James (2005), houve uma redução cumulativa no ingrediente ativo de pesticidas de 172.500 t entre 1996 a 2004, equivalente a um decréscimo de 14% no impacto ambiental associado ao uso de pesticidas nas lavouras (Tabela 2). Entretanto, esses números precisam ser avaliados conforme o tipo de OGM e do local onde ele é introduzido.

O uso de pesticida é medido pelo Quociente de Impacto Ambiental – EIQ, desenvolvido por Kovach et al. (1992), e integra os vários

impactos ambientais de cada ingrediente ativo do pesticida. Para ser obtido, multiplica-se a quantidade de ingrediente ativo utilizado por hectare de cultivo do OGM. A metodologia calcula e compara o EIQ para plantios convencionais e transgênicos e agrega o valor para níveis nacionais. A quantidade de pesticida utilizada nas áreas convencionais e transgênicas, em cada ano, foi comparada à quantidade que seria utilizada caso todo o cultivo tivesse sido convencional em cada ano, durante o período de 1996 a 2004. Segundo Brookes e Barfoot (2005), as lavouras OGM contribuíram para uma significativa redução no impacto ambiental global da produção agrícola (Tabela 2). O uso de herbicida para a soja HT caiu 4 % (Tabela 2). No entanto, em alguns países, houve um aumento relativo do uso de glifosato referente aos níveis históricos de uso. O maior ganho ambiental foi referente ao algodão Bt, que apresentou uma queda de 15 % no uso de inseticidas desde 1996 (BROOKES; BARFOOT, 2005).

Tabela 2. Impacto global das alterações no uso de herbicidas e inseticidas de culturas transgênicas, 1996-2004.

Trato	Alteração no uso do pesticida (milhões Kg)	Alterações no EIQ campo	% alteração de uso ingrediente ativo de pesticida	% alteração no EIQ <i>footprint</i>
Soja HT	-41,4	-4,11	-3,8	-19,4
Milho HT	-18,0	-503	-2,5	-3,4
Algodão HT	-24,7	-1.002	-14,5	-21,7
Canola HT	-4,8	-252	-9,7	-20,7
Milho Bt	-6,3	-377	-3,7	-4,4
Algodão Bt	-77,3	-3.463	-14,7	-17,8
Total	-172,5	-9.708	-6,3	-13,8

HT: resistente a herbicida (glifosato); Bt: resistente a insetos (gene do *Bacillus Thuriagensis*).

Fonte: Adaptado de Brookes e Barfoot, 2005.

Sankula et al. (2005) avaliaram os impactos de plantas transgênicas no uso de herbicidas nos Estados Unidos e calcularam que houve uma queda de 23 mil toneladas no uso de pesticidas durante o ano de 2004, representando uma diminuição de 34 % comparado com 2003. Cerca de 11 % da redução é referente ao uso de plantas resistentes a insetos, e o restante é consequência do uso de plantas resistentes a herbicidas.

Entretanto, Benbrook (2004), utilizando outra metodologia e avaliando os impactos somente

nos Estados Unidos, encontrou resultados um pouco diferentes. A metodologia utilizada dividiu-se em três etapas: (1) coleta dos dados da área plantada com culturas HT e Bt na base do USDA; (2) coleta dos dados das áreas de plantio não convencional das culturas estudadas; (3) cálculo da diferença, baseado na premissa de que um acre não cultivado com OGM receberia o mesmo volume de aplicações de pesticidas que um acre plantado com uma cultivar não-transgênica. Por fim, a diferença na quantidade de pesticida aplicado por acre para

cada cultura transgênica durante um ano é multiplicado pela quantidade de acres plantados durante aquele ano.

Baseado nesse cálculo, Benbrook (2004) concluiu que o uso das três culturas (soja, algodão e milho) resistentes a herbicidas aumentou o uso do produto em 5%, enquanto o uso de cultivares Bt diminuiu em 5 % o uso de inseticidas. O mesmo autor se refere que nos três primeiros anos de cultivo (1996 a 1998) houve uma queda no uso do glifosato, mas a partir de 1999 houve uma inversão no uso, provavelmente porque as plantas daninhas desenvolveram resistência ao glifosato.

Considerações finais

Pode-se dizer que existem diversos estudos que geraram dados substanciais a respeito do impacto ambiental de OGMs. Embora existam alguns dados controversos, os resultados obtidos até o momento não demonstram evidência científica de efeito no ambiente. Os estudos desenvolvidos no Brasil ainda são incipientes, uma vez que a Lei

de Biossegurança foi aprovada somente em 2005, e a CTNBio, que é responsável pelas avaliações técnicas para liberação de plantios para pesquisa e comerciais, foi regulamentada somente no final desse ano. A Embrapa desenvolve um projeto de biossegurança alimentar e ambiental de alguns OGMs produzidos pela Empresa. São eles: soja RR, algodão Bt, batata, mamão e feijão resistentes a vírus. Esse projeto finalizou em 2008, e os resultados serão em breve divulgados.

Referências

- BENBROOK, C. Genetically engineered crops and pesticide use in the United States: the first nine years. **BioTech Infonet**, 2004. (Technical Paper, 7). Disponível em: <http://www.ucsusa.org/assets/documents/food_and_environment/Benbrook.pdf>. Acesso em: 13 nov. 2006.
- BOBROWSKI, V. L.; FIUZA, L. M.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 843-850, 2003.
- BROOKES, G.; BARFOOT, P. GM crops: the global economic and

environmental impact: the first nine years 1996-2004. **AgBioForum**, v. 8, p. 187-196, 2005.

CARPENTER, J.; GOODE, T.; HAMMIG, M.; ONSTAD, D.; SANKULA, S. **Comparative environmental impacts of biotechnology derived and traditional soybean, corns, and cotton crops**. Indianapolis: Council for Agriculture Science and Technology, 2002. 42 p.

CERDEIRA, A. L.; DUKE, S. O. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistance crops: a review. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 35, p. 1633-1658, 2006.

CHAMPION, G. T.; MAY, M. J.; BENNET, S.; BROOKS, D. R.; CLARK, S. J.; DANIEIS, R. E.; FIRBANK, L. G.; HAUGHTON, A. J.; HAWES, C.; HEARD, M. S.; PERRY, J. N.; RANDLE, Z.; ROSSAL, M. J.; ROTHERY, P.; SKELLERN, M. P.; SCOTT, R. J.; SQUIRE, G. R.; THOMAS, M. R. Crop management and agronomic context of the farm scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B-Biological**, London, v. 358, p. 1801-1818, 2003.

CHRISTOU, P.; CAPELL, T.; KOHLI, A.; GATEHOUSE, J. A.; GATEHOUSE, A. M. R. Recent development and future prospects in insect pest control

in transgenic crops. **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 302-308, 2006.

HEAP, I. M. The occurrence of herbicide-resistant weeds world-wide. **Pesticide Science**, v. 51, p. 235-243, 1997.

HELLMICH, R. L.; SIEGFRIED, B. D.; SEARS, M. K.; STANLEY-HORN, D. E.; DANIELS, M. J.; MATTILLA, H. R.; SPENCER, T.; BIDNE, K. G.; LEWIS, L. C. Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, p. 11925-11930, 2001.

JAMES, C. **Executive summary of global status of commercialized Biotech/GM crops**: 2005. Ithaca: ISAAA, 2005. 11 p. (ISAAA. Briefs, 34).

JESSE, L. C. H.; OBRYCKI, J. J. Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. **Oecologia**, Berlin, v. 125, p. 241-248, 2000.

KOVACH, J.; PETZOLDT, C.; DEGNI, J.; TETTE, J. A method to measure the environmental impact of pesticides. **New York's Food and Life Sciences Bulletin**, Geneva, n. 139, 1992. Disponível em: <<http://www.nysaes.cornell.edu/pubs/fls/OCRPDF/139.pdf>>. Acesso em: 17 nov. 2006.

LOSEY, J. E.; RAYOR, L. S.; CARTER, M. E. Transgenic pollen harms monarch larvae. **Nature**, v. 399, p. 214, 1999.

MARGARIDO, L. A. C. Riscos e incertezas dos cultivos transgênicos sob a perspectiva agroecológica. In: COSTA, M. F. B.; COSTA, M. A. F. (Org.). **Biossegurança de OGM: saúde humana e ambiental**. Rio de Janeiro: Papel Virtual, 2003. p. 68-80.

OBERHAUSER, K. S.; PRYSBY, M. D.; MATTILLA, H. R.; STANLEY-HORN, D. E.; SEARS, M. K.; DIVELY, G.; OLSON, E.; PLEASANTS, J. M.; LAM, W. F. K.; HELLMIC, R. L. Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, p. 11913-11918, 2001.

OMOTO, C.; MARTINELLI, S. Resistência de insetos a plantas geneticamente modificadas. In: BORÉM, A. (Ed.). **Biotecnologia e meio ambiente**. Viçosa: Folha de Viçosa, 2004. p. 273-310.

OWENM, D. K.; ZELAYA, I. A. Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. **Pest Management Science**, v. 61, p. 301-311, 2005.

PLEASANTS, J. M.; HELLMINCH, R. L.; DIVELY, G. P.; SEARS, M. K.; STANLEY-HORN, D. E.; MATTILLA, H. R.; FOSTER, J. E.; CLARK, P.; JONES, G. D. Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United**

States of America, Washington, v. 98, p. 11919-11924, 2001.

SANDERMANN, H. Plant biotechnology: ecological case studies on herbicide resistance. **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 324-328, 2006.

SANKULA, S.; BLUMENTHAL, E. Impacts on US agriculture biotechnology-derived crops planted in 2003: na update of eleven case studies. **National Center for Food and Agricultural Policy**, Washington, 2004. Disponível em: <<http://www.agbios.com/docroot/articles/04-365-001.pdf>>. Acesso em: 17 nov. 2006.

SANKULA, S.; MARMON, G.; BLUMENTHAL, E. Biotechnology-derived crops planted in 2004: impacts on US Agriculture. **National Center for Food and Agricultural Policy**, Washington, 2005. Disponível em: <<http://www.ncfap.org/whatwedo/pdf/2004biotechimpacts.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2006.

SANVIDO, O.; STARK, M.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Ecological impacts of genetically modified crops: experiences from ten years of experimental field research and commercial cultivation. **Agroscope Reckenholz-Tänikon Research Station ART**, Zurich, 2006. Disponível em: <http://www.art.admin.ch/dms_files/03017_de.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2006.

SEARS, M. K.; HELLMINCH, R. L.; STANLEY-HORN, D. E.;

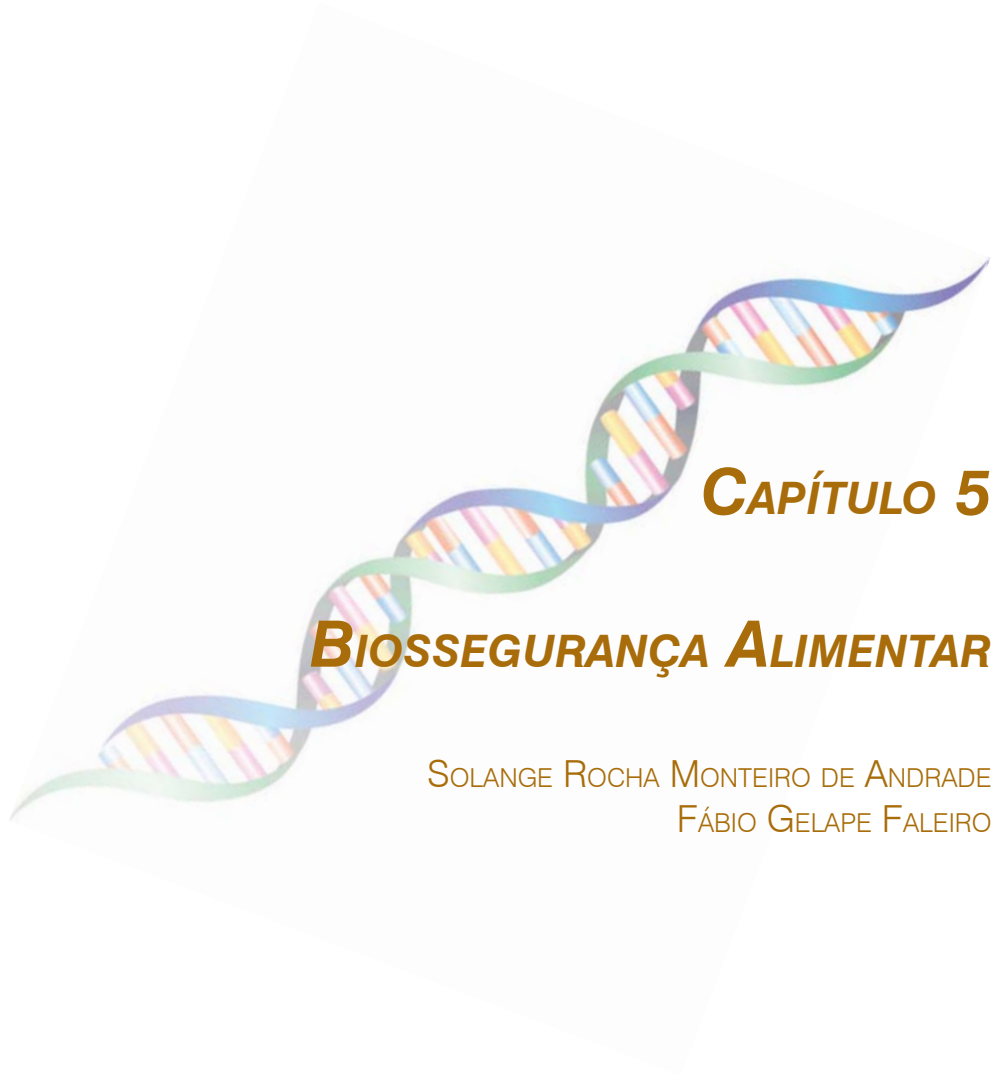
OBERHAUSER, K. S.; PLEASANTS, J. M.; MATTILLA, H. R.; SIEGFRIED, B. D.; DIVELY, G. P. Impacts of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: a risk assessment. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, p. 11937-11942, 2001.

SQUIRE, G. R.; BROOKS, D. R.; BOHAR, D. A.; CHAMPION, G. T.; DANIEIS, R. E.; HAUGHTON, A. J.; HAWES, C.; HEARDS, M. S.; HILL, M. O.; MAY, M. J.; OSBORN, J. L.; PERRY, J. N.; ROY, D. B.; WOIWOD,

I. P.; FIRBANK, L. G. On rationale and interpretation of the farm scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B-Biological**, London, v. 358, p. 1779-1799, 2003.

VAN LEEWEEN, C. J.; HERMENS, J. M. L. **Risk assessment of chemicals:** an introduction. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. 374 p.

VAN GESSEL, M. J. Glyphosate-resistant houseweed from Delaware. **Weed Science**, v. 49, p. 703-705, 2001.



CAPÍTULO 5

BIOSSEGURANÇA ALIMENTAR

SOLANGE ROCHA MONTEIRO DE ANDRADE
FÁBIO GELAPE FALEIRO

BIOSSEGURANÇA ALIMENTAR

Introdução

Quais são os verdadeiros riscos dos alimentos transgênicos para a saúde humana? Logicamente, não se pode generalizar uma resposta. Entretanto, é possível dizer que o risco é menor do que o de outro tipo de alimento liberado para consumo humano que não passou por testes tão rigorosos quanto os transgênicos. Em 2002, a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou documento no qual afirmava que alimentos transgênicos liberados no mercado internacional passaram por diversos testes e não apresentavam riscos para a saúde humana. Nenhum efeito foi detectado na saúde da população dos países nos quais foram liberados. É importante salientar que alimentos transgênicos, antes da liberação para a alimentação humana, são submetidos a uma bateria de testes, como os de caracterização da proteína expressada, de digestibilidade in vitro e de

avaliação de toxicidade aguda oral em camundongos, de homologia estrutural da proteína com toxinas protéicas conhecidas e do potencial alergênico e equivalência nutricional. Essa bateria de testes é extremamente rigorosa e somente os organismos transgênicos estão sujeitos a ela.

Equivalência Substancial (ES)

O Princípio da Equivalência Substancial, cunhado em 1993 pela Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Comunidade Européia, considera que os organismos existentes e seus produtos derivados podem ser utilizados como parâmetro comparativo na avaliação de segurança de alimentos geneticamente modificados (AGMs), uma vez que esses alimentos possuem um histórico de uso seguro (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION

AND DEVELOPMENT, 1993). Isso é, todo alimento utilizado é presumivelmente seguro a não ser que um perigo significativo tenha sido identificado. Com base nesse conceito, avaliam-se similaridades e diferenças entre os AGMs em comparação a seus análogos considerados saudáveis (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). O objetivo é garantir que os alimentos transgênicos sejam tão seguros quanto os análogos convencionais.

Cenários possíveis:

- 1) AGM ou derivado é substancialmente equivalente ao análogo convencional quanto à composição, aspectos agrônômicos e toxicológicos.
- 2) AGM ou derivado é equivalente ao análogo convencional, exceto por algumas poucas diferenças claramente definidas.
- 3) AGM ou derivado não é equivalente ao análogo convencional.

No primeiro cenário, não são necessários estudos adicionais. No segundo, a característica estaria relacionada ao gene inserido. Nesse caso, estudos adicionais

acerca da proteína expressa são requeridos (p.e., alergenicidade, digestibilidade). No último cenário, serão necessárias avaliações complementares, utilizando técnicas mais sofisticadas, como proteoma e metaboloma (LAJOLO; NUTTI, 2003; WATANABE; NUTTI, 2002).

Entretanto, a equivalência substancial é apenas uma análise preliminar que não garante a segurança, mas auxilia na identificação de similaridades e diferenças entre o alimento convencional e o alimento geneticamente modificado, que, posteriormente, é submetido a análises toxicológicas adicionais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000; WATANABE; NUTTI, 2002). Tais análises são importantes porque podem ocorrer efeitos não intencionais que alteram a composição e o valor nutricional do alimento, podem ocorrer, também, efeitos antinutricionais ou tóxicos (LAJOLO; NUTTI, 2003). Assim, todo alimento transgênico é submetido a um processo de análise de risco antes de ser liberado para o consumo humano ou animal.

A liberação de um alimento geneticamente modificado ocorre caso a caso e para isso o AGM em questão precisa ser analisado por avaliação preliminar de perigo, em que se analisa, além da Equivalência Substancial, o aspecto nutricional e toxicológico.

Conceitos de risco e perigo

Antes de se discutir cada etapa da análise de risco, é necessária a compreensão dos conceitos de *risco* e de *perigo*. A Organização Mundial de Saúde (WHO-World Health Organization) juntamente com a Food and Agriculture Organization (FAO) definiram *perigo* como a presença do agente causador de danos, isso é, o agente nocivo capaz de causar algum efeito prejudicial; e *risco* como a probabilidade de ocorrência do agente (WATANABE; NUTTI, 2002; LAJOLO; NUTTI, 2003). Como exemplo, pode-se considerar *perigo* a presença de uma casca de banana jogada na calçada; e *risco*, a probabilidade de alguém pisar na casca e sofrer um tombo. Em relação a OGMs, pode-

se considerar que a introdução de uma seqüência estranha pode causar efeitos intencionais e não-intencionais, previsíveis ou não, pois a incorporação do DNA no genoma pode interferir na expressão de outros genes, podendo alterar o metabolismo da planta. Além disso, o produto da expressão do DNA é uma proteína que pode ter efeito tóxico, alergênico, antinutricional ou mesmo alterar o valor nutricional do alimento.

Efeito do DNA recombinante (DNArec)

Dentro desse contexto, é possível identificar qual é o *perigo* e o *risco* de um alimento transgênico. Um dos primeiros pontos a ser discutido é a hipótese de haver *perigo* na ingestão do DNArec introduzido no alimento, e a possibilidade de haver uma transferência horizontal desses genes para bactérias intestinais ou mesmo para as células do intestino. O DNA é constituído de seqüências de nucleotídeos e cada nucleotídeo apresenta uma base nitrogenada (adenina, guanina, citosina e timina), um açúcar (pentose) e um

radical fosfato. Considerando que o DNA recombinante inserido nos alimentos não difere quimicamente do DNA constituinte dos alimentos que ingerimos diariamente, conclui-se que a degradação do DNA recombinante não difere da degradação do DNA normalmente ingerido por meio dos alimentos não-transgênicos. Além disso, a quantidade de DNArec ingerida é 20 mil vezes menor que a quantidade de DNA normalmente ingerido uma dieta diária. Também deve-se lembrar que o processamento dos alimentos – seja industrial, seja doméstico – costuma reduzir o DNA em fragmentos menores que 200 pares de base, os quais são facilmente fagocitados e digeridos pelas células do intestino (LAJOLO; NUTTI, 2003). Assim, a FAO e OMS consideram que a simples ingestão do DNA recombinante não é perigosa, pois ingerimos DNA diariamente em nossa dieta (FAO, 1996).

Transferência horizontal

Em 1993, a OMS organizou um *workshop* sobre “Aspectos relacionados à saúde dos

genes marcadores de plantas geneticamente modificadas”. Nesse encontro, com base nas considerações sobre a complexidade das etapas necessárias para a transferência horizontal, concluiu-se que não existiam evidências de transferência de genes de plantas para microrganismos no trato gastrointestinal. Para suceder tal transferência, seria necessária a ocorrência das seguintes etapas:

- 1) O DNA vegetal teria de ser liberado da célula/tecido vegetal e não ser degradado (sobreviver) no ambiente gastrointestinal, exposto ao ácido gástrico e às nucleases.
- 2) O microrganismo receptor teria de estar competente para a transformação.
- 3) O microrganismo receptor teria de se ligar ao DNA a ser transferido.
- 4) O DNA teria de penetrar a parede celular e translocar-se através da membrana celular do microrganismo.
- 5) O DNA teria de continuar íntegro ao sistema de restrição/

modificação desenvolvido pelo microrganismo para degradar o DNA estranho.

- 6) O DNA teria de ser integrado ao genoma ou plasmídios do hospedeiro, o que requer a homologia de pelo menos 20 pares de base em ambas as extremidades do DNA a ser transferido, possibilitando a recombinação genética.

O Conselho da FAO (1996) concordou com decisão do *workshop* de 1993, ponderando que, embora a transferência do DNA para as bactérias do trato intestinal seja remota, em caso de genes que poderiam afetar a saúde humana ou animal, como é o caso da resistência a antibióticos, esses não deveriam ser utilizados em alimentos geneticamente modificados. O conselho também considerou que o princípio da Equivalência Substancial (ES) deveria ser uma etapa-chave no processo de avaliação da segurança alimentar (FAO, 1996).

Alergenicidade

A alergia a um alimento é uma reação adversa a algum

componente dele e envolve uma resposta anormal do sistema imunológico do corpo. O tipo mais comum de alergia a alimentos é o mediado pela produção de anticorpos específicos, as imunoglobulinas E específicas (IgE). Em uma resposta alérgica mediada por IgE, os primeiros sintomas ocorrem alguns minutos ou horas após a ingestão do alimento e exposição do corpo ao agente alergênico. Algumas alergias comuns mediadas por IgE são as induzidas por pólen, esporos, pêlos de animais, picadas de insetos e alguns tipos de alimentos. Existem também respostas alérgicas mediadas por reações celulares, que, em geral, ocorrem cerca de 8 horas após a ingestão do alimento, por exemplo, a alergia ao glúten (FAO, 2001).

Respostas alérgicas mediadas por IgE afetam de 10 % a 25 % da população de países em desenvolvimento, embora as alergias causadas por alimentos afetem menos de 2,5% da população. As crianças são mais atingidas que os adultos e, segundo dados da FAO/WHO, crianças abaixo de 3 anos

respondem por cerca de 5 % a 8 % das reações alérgicas a alimentos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

Um ponto importante é que quase todos os alergênicos alimentares são proteínas, as quais podem estar distribuídas em diferentes partes da planta e serem influenciadas por fatores ambientais. No entanto, não existe uma propriedade única que caracterize um alergênico potencial, embora a maioria dos alergênicos possua uma série de características comuns. São elas: (1) resistência à digestão; (2) resistência ao processamento; (3) peso molecular de 10 kDa a 70 kDa; (4) presença no alimento em concentrações acima de 1 %; (5) seqüência de aminoácidos com homologia a outros alergênicos conhecidos (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2002).

Segundo o Codex Committee on Food Labelling, uma unidade do Codex Alimentarius, existe uma série de alimentos que pode causar alergias, sendo que amendoim, soja, leite, ovos, peixes, crustáceos, trigo e castanhas são responsáveis por 90 % das reações alérgicas.

Algumas espécies de vegetais e frutas frescas também apresentam reações alérgicas tipicamente na região da boca e da faringe; no entanto, as proteínas alergênicas desses alimentos são instáveis quando aquecidas ou digeridas (FAO, 2001).

A resposta alérgica mediada por IgE ocorre após a ingestão do alimento, de modo que a proteína alergênica induz a produção de um anticorpo específico IgE, que tornará o indivíduo sensível à ingestão daquele alimento. Assim, o indivíduo passa por uma primeira exposição ao alimento antes de demonstrar uma reação alérgica a ele. A resposta alérgica varia de moderada a severa, pois cada indivíduo responde de maneira diferente ao indutor da alergia. No entanto, indivíduos altamente sensíveis podem responder a quantidades pequenas, como microgramas, e a resposta pode ocorrer em minutos. O tratamento para indivíduos alérgicos é via dietas específicas com restrição ao alimento alergênico (FAO, 2001).

Baseado no exposto, a preocupação com o potencial

alergênico dos organismos geneticamente modificados é bastante alta. Por conta disso, diversas discussões internacionais têm sido realizadas. Em 1996, o Conselho Internacional de Biotecnologia de Alimentos e o Instituto de Alergia e Imunologia do International Life Science Institute (ILSI) desenvolveu uma árvore de decisões sobre o potencial alergênico (Fig. 1), revisada posteriormente, em 2001, por um conselho da FAO e da Organização

Mundial de Saúde. Essa árvore de decisões, largamente adotada pela indústria de alimentos derivados da biotecnologia, considera a origem do gene, a homologia de seqüência com alergênicos conhecidos, a ligação imunoquímica da proteína produzida com IgE de soro sanguíneo de indivíduos conhecidamente alérgicos ao organismo doador do gene introduzido e as características físico-químicas dessa proteína (METCALFE et al., 1996; FAO, 2001).

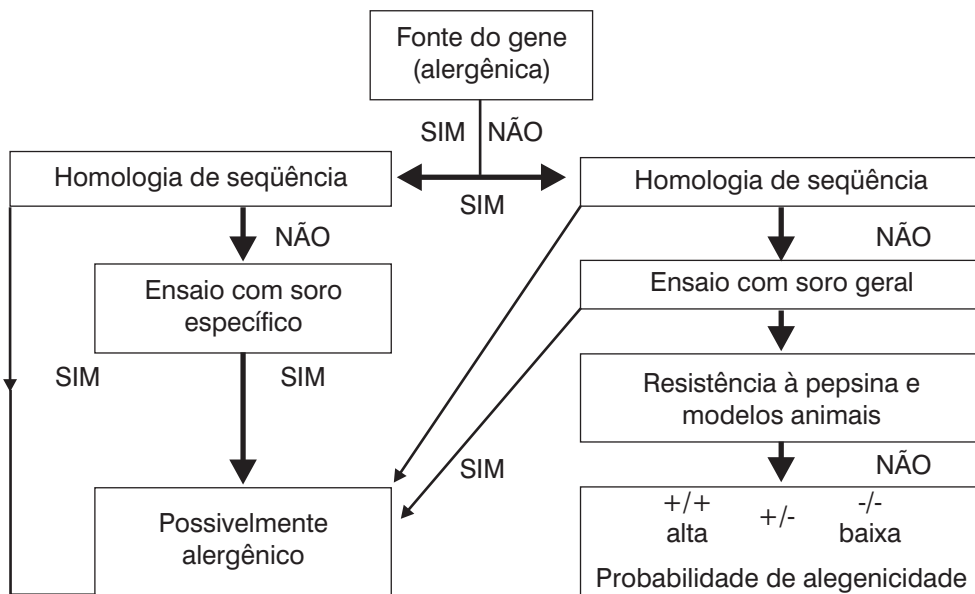


Fig. 1. Árvore de decisão sobre o potencial alergênico

Fonte: Adaptado de FAO, 2001.

Essas características facilitam a identificação do potencial alergênico do produto transgênico, embora nenhum critério, separadamente, seja suficiente para confirmar a alergenicidade de uma proteína. Os critérios relevantes na utilização da árvore de decisão são:

- 1) Fonte do gene transferido: atenção particular no caso de a fonte do gene conter alergênicos conhecidos.
- 2) Homologia da seqüência: a seqüência de aminoácidos de muitas proteínas alergênicas é facilmente acessada.
- 3) Imunorreatividade da nova proteína: caso a proteína seja derivada de uma fonte alergênica conhecida ou tenha homologia de seqüência com algum alergênico, então a reatividade ao IgE do soro sanguíneo de indivíduos alérgicos ao alimento é determinada.
- 4) Efeito do pH e(ou) digestão: a maioria dos alergênicos são resistentes ao suco gástrico e a proteases digestivas.
- 5) Estabilidade ao processamento ou aquecimento: alergênicos de alimentos susceptíveis

ao calor ou processamento são considerados menos preocupantes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

Análise de risco

A análise de risco de OGMs é um procedimento com diferentes etapas: (i) a avaliação do risco; (ii) o gerenciamento do risco; e (iii) a comunicação do risco (LAJOLO; NUTTI, 2003). Essa análise é baseada em metodologias científicas que buscam a sistematização das informações de determinado perigo e auxiliam no processo de avaliação de risco e na adoção de medidas para minimizá-lo ou eliminá-lo (LAJOLO; NUTTI, 2003).

Interessante notar que várias plantas utilizadas na alimentação humana são tóxicas quando digeridas cruas, por exemplo, a mandioca, a batata, a soja e outras leguminosas. No entanto, após o processamento, o efeito tóxico é eliminado, assim, a mera presença de um componente tóxico numa variedade vegetal não elimina sua utilização (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1993).

Considerações finais

Assim, do ponto de vista alimentar, o nível de segurança dos alimentos geneticamente modificados (AGMs) é muito alto, uma vez que esses alimentos são submetidos a uma bateria de testes extremamente rigorosa. Com isso, é possível dizer que o risco que um alimento transgênico oferece pode ser considerado menor que o de outro tipo de alimento liberado para consumo humano que não passa por uma bateria de testes tão rigorosa.

Referências

FAO. **Biotechnology and food safety**. Rome, 1996. 27 p. (FAO. Food and Nutrition Paper, 61). Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/biotechnology.pdf>. Acesso em: 16 maio 2005.

FAO. **Evaluation of allergenicity of genetically modified foods**. Rome, 2001. 27 p. (Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology). Disponível em: <http://www.fao.org/es/ESN/food/pdf/allergygm.pdf>. Acesso em: 16 maio 2005.

LAJOLO, F. M.; NUTTI, M. R. **Transgênicos**: bases científicas da sua segurança. São Paulo: SBAN, 2003. 112 p.

METCALFE, D. D.; ASTWOOD, T. D.; TOWNSEND, R.; SAMPSON, H. A.; TAYLOR, S. L.; FUCHS, R. L. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 36, p. 165-186, 1996.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Safety evaluation of foods produced by modern biotechnology**: concepts and principles. Paris, 1993. Disponível em: <http://www.oecd.org/dataoecd/57/3/1946129.pdf>. Acesso em: 30 maio 2005.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Safety assessment of new food**: results of an OECD survey of serum banks for allergenicity testing, and use of databases. France, 2002. SG/ICGB (1997)1/Final. Disponível em: <http://www.olis.oecd.org/olis/1997doc.nsf/43bb6130e5e86e5fc12569fa005d004c/656a6ffd5ec500d0c1256b6e00372ca1/\$FILE/JT00121603.PDF>. Acesso em: 31 maio 2005.

WATANABE, E.; NUTTI, M. R. Alimentos geneticamente modificados: avaliação de segurança e melhorias de qualidade em desenvolvimento. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 1-14, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION.
**Safety aspects of genetically
modified foods of plant origin.** Rome,
2000. 36 p. (Report of a joint FAO/

WHO Expert Consultation on Foods
Derived from Biotechnology). Disponível
em: <[http://www.fao.org/es/ESN/food/pdf/
gmreport.pdf](http://www.fao.org/es/ESN/food/pdf/gmreport.pdf)>. Acesso em: 30 maio 2005.



CAPÍTULO 6

ASPECTOS LEGAIS DA PESQUISA COM TRANSGÊNICOS NO BRASIL

MÔNICA CIBELE AMÂNCIO

ASPECTOS LEGAIS DA PESQUISA COM TRANSGÊNICOS NO BRASIL

Histórico

As atividades envolvendo organismos geneticamente modificados (OGM) e seus derivados são reguladas pelas normas estabelecidas na legislação brasileira de biossegurança.

No Brasil, a primeira norma a tratar desse assunto foi a Lei 8.974, de 5 de janeiro de 1995. Essa norma tinha por objetivo regulamentar, da maneira mais completa possível, os aspectos de biossegurança relacionados ao desenvolvimento de produtos geneticamente modificados e seus derivados no País.

Todavia, a evolução das discussões acerca da adoção dos transgênicos no Brasil, principalmente após os conflitos entre a legislação de biossegurança e a legislação ambiental, levou à necessidade de uma reestruturação em nossa legislação sobre a matéria.

Os problemas em relação à aplicação da Lei 8.974/1995

surgiram a partir de 1998, quando a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), mediante o Comunicado 54, de 1º de outubro de 1998 e a Instrução Normativa 18/1998, publicou parecer técnico prévio conclusivo, no qual aprovava o pedido de liberação comercial da soja geneticamente modificada tolerante ao herbicida à base de glifosato (a chamada “soja” RR), apresentado pela empresa Monsanto do Brasil Ltda. A aprovação da CTNBio não trazia como exigência a realização do Relatório de Impacto Ambiental (EIA/Rima).

A competência da CTNBio para retirar a exigência da elaboração do EIA/Rima foi imediatamente questionada na Justiça, mediante ação civil pública impetrada pelo Instituto de Defesa do Consumidor (Idec), o que resultou na abertura de um amplo e polêmico processo de discussão a respeito da adoção ou não dessa tecnologia no País.

A questão era extremamente polêmica e teve desdobramentos tanto no âmbito do Poder Judiciário, como no do Executivo e Legislativo, em uma discussão que envolveu toda a sociedade brasileira.

Fruto de toda essa polêmica, foi editado no País um conjunto de leis e dispositivos infralegais que acabou por gerar um quadro regulatório extremamente burocrático e complexo.

No Brasil, até março de 2005, desde a concepção de um projeto de pesquisa para gerar determinado produto geneticamente modificado até que ele conseguisse ser efetivamente comercializado, fazia-se necessário percorrer um longo caminho, com um número elevado de licenças e autorizações que deviam ser solicitadas a diferentes órgãos do governo ao longo do processo (Fig. 1).

Todo esse processo acabou por gerar um verdadeiro caos regulatório, que praticamente paralisou a pesquisa e o desenvolvimento dessa tecnologia no Brasil. Na tentativa de solucionar o problema, o governo federal enviou ao Congresso Nacional um projeto de lei, fruto da discussão com os diversos atores envolvidos, propondo uma nova regulamentação para o assunto no Brasil.

Após um ano e meio de intensas e acaloradas discussões, esse projeto foi finalmente aprovado no Congresso Federal. Em 24 de março de 2005, o Presidente da República sancionou a Lei 11.105, a nova Lei de Biossegurança no Brasil, posteriormente regulamentada pelo Decreto 5.591, de 22 de novembro de 2005.

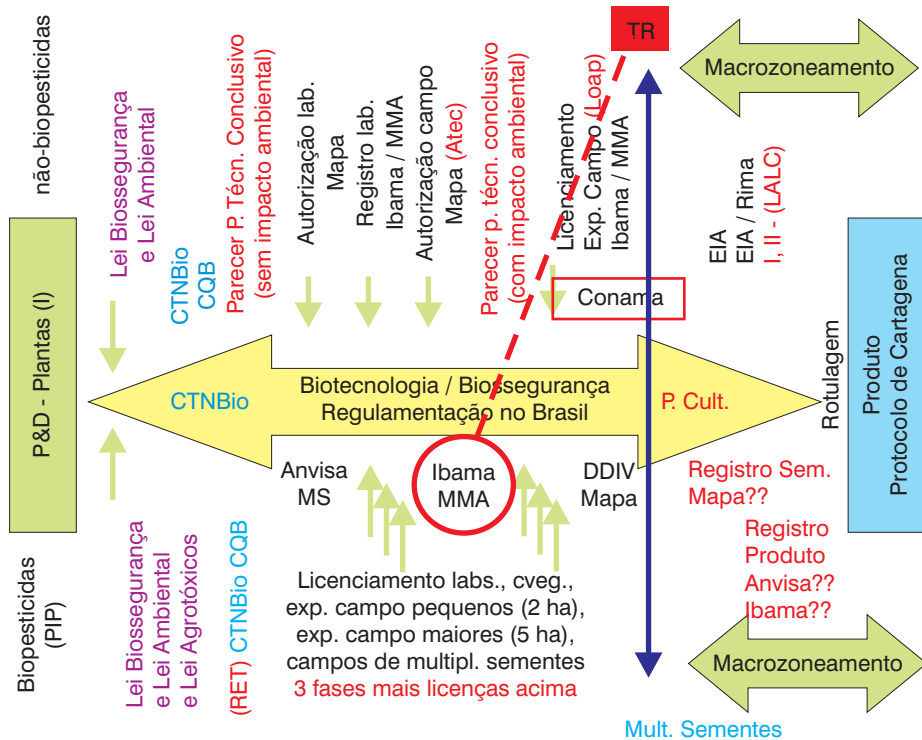


Fig. 1. Arcabouço legal vigente no Brasil até 2005, mostrando a complexidade de autorizações e licenças necessárias para aprovação de atividades envolvendo OGM e seus derivados. Fonte: Sampaio, 2004.

Principais aspectos da nova legislação de biossegurança brasileira¹

A Lei nº 11.105/2005 estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização

sobre a construção, cultivo, produção, manipulação, transporte, transferência, importação, exportação, armazenamento, pesquisa, comercialização, consumo e liberação no meio ambiente, e descarte de OGM e seus derivados no País. (Art. 1º).

¹ As implicações da Lei 11.105/2005 para o desenvolvimento de pesquisas com células-tronco não serão tratadas nesta obra, em virtude da especificidade e características próprias da matéria.

Como desdobramento dessa lei, editou-se posteriormente o Decreto Regulamentador 5.591/2005, novas instruções normativas da CTNBio, bem como a Medida Provisória 327/2006 e o Decreto 5.950/2006 (as duas últimas normas referentes à pesquisa em áreas próximas às unidades de conservação brasileiras).

É importante ressaltar que, por se tratar de legislação nova e ainda em fase de aplicação, novas alterações no texto da Lei 11.105/2005 já são discutidas no Congresso Nacional.

Todas essas normas regulamentam as atividades envolvendo transgênicos no Brasil, sejam elas para pesquisa ou para comercialização. Seguindo os princípios básicos de biossegurança, a avaliação da segurança, tanto alimentar como ambiental de um produto geneticamente modificado, deve ser feita desde o momento em que ele é trabalhado dentro de um laboratório até a sua efetiva colocação no mercado consumidor. A nossa legislação sobre o tema estabelece as regras para que isso seja feito.

Modelo institucional brasileiro para o desenvolvimento de atividades envolvendo transgênicos

Comissões Internas de Biossegurança (CIBio)

A primeira imposição da legislação de biossegurança sobre o desenvolvimento de atividades envolvendo OGM ou seus derivados é que essas atividades não podem ser feitas por pessoas físicas, de maneira autônoma. É necessário ser uma pessoa jurídica, seja ela pública ou privada, para obter as autorizações necessárias para o desenvolvimento desse tipo de atividade.

Uma vez que a instituição decide trabalhar com esse tipo de tecnologia, a primeira atitude a ser tomada, de acordo com a lei, é a criação, em seu âmbito interno, de uma Comissão Interna de Biossegurança (CIBio), além da indicação de um técnico principal responsável para cada projeto específico (art. 17 da Lei 11.105/2005) e cap. II da Resolução Normativa 1/2006 da CTNBio).

Essa comissão irá exercer a importante função de cuidar dos aspectos relacionados à biossegurança dos projetos dentro daquela instituição e tem suas competências definidas no art. 18 da Lei 11.105/2005.

Compete a ela, entre outras, capacitar recursos humanos sobre questões de biossegurança, fiscalizar o funcionamento das instalações sob sua responsabilidade em termos de biossegurança, manter o registro e acompanhamento de todas as atividades envolvendo OGM e seus derivados na sua instituição e notificar os órgãos responsáveis em caso de acidentes, bem como tomar as primeiras providências cabíveis para evitar efeitos adversos. Além, é claro, de relacionar-se diretamente com a CTNBio para obter as autorizações necessárias ao desenvolvimento de projetos e atividades que envolvam OGM e seus derivados.

Instituída a CIBio, o primeiro passo para a realização de qualquer atividade envolvendo OGM e seus derivados por uma determinada instituição é conseguir a autorização para tanto junto à Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) (§3º do art. 2º da lei)².

Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio)

A CTNBio é uma instância colegiada multidisciplinar de caráter consultivo e deliberativo, vinculada ao Ministério da Ciência e Tecnologia.

Sua composição antiga de 18 membros, prevista pela Lei nº 8.974/1995, foi alterada para 27. Destes, 12 são cientistas de notório saber científico e técnico, em efetivo exercício profissional (3 da área de saúde humana, 3 da área animal, 3 da área vegetal e 3 da área de meio ambiente), 9 representantes dos Ministérios envolvidos com a questão³, 1 especialista em defesa

² Essa autorização é o chamado Certificado de Qualidade em Biossegurança – CBQ. As regras para sua emissão foram determinadas pela CTNBio na Resolução Normativa 1, de 20 de junho de 2006.

³ São eles: Ministério da Ciência e Tecnologia, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Ministério da Saúde, Ministério do Meio Ambiente, Ministério do Desenvolvimento Agrário, Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio, Ministério da Defesa, Secretaria Especial de Aquicultura, e Pesca e Ministério das Relações Exteriores.

do consumidor, 1 em saúde, 1 em meio ambiente, 1 em biotecnologia, 1 em agricultura familiar e 1 em saúde do trabalhador.

Todos os membros da CTNBio devem ter o grau de doutor e destacada atividade profissional nas áreas de biossegurança, biotecnologia, biologia, saúde humana e animal ou meio ambiente. Tais exigências reforçam o caráter técnico da comissão e conferem maior segurança às decisões por ela tomadas, levando-se em conta a complexidade e tecnicidade das questões relacionadas à análise de risco de OGM e derivados.

Cada membro da CTNBio tem um suplente, que participa dos trabalhos na ausência do titular e pode votar nesse caso. Os membros da CTNBio têm mandatos de 2 anos, renováveis por até mais dois períodos consecutivos.

O presidente da CTNBio é designado, entre seus membros, pelo Ministro da Ciência e Tecnologia, e as reuniões dessa comissão são instaladas com 14 membros, incluído pelo menos um representante

cientista de cada uma das áreas mencionadas na lei (saúde humana, animal, vegetal e meio ambiente).

O quórum para tomada de decisões pela CTNBio foi estabelecido no Decreto 5.591/2005, cujo parágrafo único do art. 19 estabelece que as decisões da CTNBio serão tomadas com votos favoráveis da maioria absoluta de seus membros, exceto nos processos de liberação comercial de OGM e derivados, para os quais se exigirá que a decisão seja tomada com votos favoráveis de pelo menos dois terços dos membros.

Assim, para que a CTNBio tome uma decisão em qualquer processo relativo ao uso de OGM e seus derivados para a pesquisa, serão necessários 14 votos favoráveis a essa decisão. Já quanto às decisões em processos relativos ao uso comercial de OGM e seus derivados, serão necessários 18 votos favoráveis para que a decisão seja tomada.

Destacam-se entre as competências da CTNBio (artigo 14 da Lei 11.105/2005):

- Estabelecer normas para as pesquisas com OGM e derivados de OGM.
- Proceder à análise da avaliação de risco, caso a caso, relativamente a atividades e projetos que envolvam OGM e derivados.
- Autorizar, cadastrar e acompanhar as atividades de pesquisa com OGM ou derivado de OGM, nos termos da legislação em vigor.
- Autorizar a importação de OGM e seus derivados para atividade de pesquisas.
- Prestar apoio técnico consultivo e de assessoramento ao CNBS na formulação da Política Nacional de Biossegurança de OGM e seus derivados.
- Emitir os Certificados de Qualidade em Biossegurança (CQB) para o desenvolvimento de atividades envolvendo OGM e seus derivados.
- Emitir decisão técnica, caso a caso, sobre a biossegurança de OGM e seus derivados no âmbito das atividades de

pesquisa e de uso comercial de OGM e seus derivados, a qual tem caráter vinculativo para os demais órgãos e entidades da administração.

Entre essas competências, o ponto crucial está no inciso XX do art. 14, que diz textualmente ser da competência da CTNBio identificar atividades e produtos decorrentes do uso de OGM e seus derivados potencialmente causadores de degradação do meio ambiente ou que possam causar riscos à saúde humana.

Isso não significa que os OGMs ou seus derivados não estão mais sujeitos ao licenciamento ambiental. O que o legislador fez foi apenas colocar um ponto final nas discussões acerca da competência para tomar esse tipo de decisão.

A CTNBio continuará efetuando a análise de risco dos processos a ela submetidos em relação ao uso de OGM e derivados, caso a caso. Haverá situações em que ela identificará as atividades e produtos decorrentes do uso desses OGMs ou derivados como não sendo potencialmente causadoras de

degradação do meio ambiente ou que possam causar riscos à saúde humana e outras em que a comissão identificará esse perigo. Nesses casos, caberá aos órgãos ambientais fazer o licenciamento ambiental.

O disposto no inciso XX do art. 14 é reforçado pelos §2º e §3º do art. 16, e pelo art. 37 da Lei 11.105/2005.

A Lei 11.105/2005 também fortaleceu o trabalho da CTNBio ao estabelecer que seu parecer vincula os demais órgãos da Administração Pública.

Órgãos e Entidades de Registro e Fiscalização

Os órgãos e entidades de registro e fiscalização a que se refere a Lei 11.105/2005 são aqueles vinculados ao Ministério da Saúde (no caso, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa), Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (no caso, a Coordenação de Biossegurança do Mapa), Ministério do Meio Ambiente (no caso, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Renováveis – Ibama) e da

Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca da Presidência da República.

Destacam-se entre suas competências:

- Fiscalizar as atividades de pesquisa de OGM e seus derivados.
- Registro e fiscalizar a liberação comercial de OGM e seus derivados (nesses casos, esses órgãos poderão estabelecer normas próprias para efetuar o registro, autorização, fiscalização e licenciamento ambiental desses produtos, com exigências adicionais além das apresentadas à CTNBio. Entretanto, tais exigências somente poderão ser efetuadas no sentido de adequar as decisões da CTNBio aos procedimentos, meios e ações em vigor aplicáveis aos produtos convencionais, conforme estabelece o §1º do art. 53 do Decreto 5.591/2005. Não se pode olvidar que as decisões da CTNBio são sempre vinculantes para esses órgãos do ponto de vista técnico da biossegurança).

- Emitir autorização para a importação de OGM e seus derivados para uso comercial (essa competência passa a ser exclusiva desses órgãos, tendo em vista que a lei concedeu à CTNBio apenas a competência para autorizar a importação para realização de pesquisas).
- Subsidiar a CTNBio na definição de quesitos de avaliação de biossegurança de OGM e seus derivados.

Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS)

Uma das inovações da Lei 11.105/2005 em relação à antiga Lei de Biossegurança é a criação do Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS). Esse Conselho é formado por 11 Ministros de Estado⁴ e vinculado à Presidência da República, sendo um órgão de assessoramento superior do Presidente da República para a formulação e

implementação da Política Nacional de Biossegurança no Brasil (art. 8º da lei).

Ao CNBS compete a fixação de princípios e diretrizes para a ação administrativa dos órgãos e entidades federais com competências sobre as questões de biossegurança no País, bem como a tomada de decisão, em determinados casos, em relação a pedidos de liberação para uso comercial de OGM e seus derivados.

Deve-se lembrar que, no caso de decisões técnicas quanto ao uso de OGM e seus derivados para a realização de pesquisas, as decisões da CTNBio são sempre soberanas, não cabendo ao CNBS se manifestar.

Em relação ao uso comercial de OGM ou seus derivados, o CNBS se manifestará em três ocasiões: (i) quando a CTNBio assim solicitar, quanto aos aspectos

⁴ Os membros do CNBS são os seguintes: Ministro de Estado Chefe da Casa Civil da Presidência da República (Presidente do CNBS), Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia, Ministro de Estado do Desenvolvimento Agrário, Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Ministro de Estado da Justiça, Ministro de Estado da Saúde, Ministro de Estado do Meio Ambiente, Ministro de Estado do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, Ministro de Estado das Relações Exteriores, Ministro de Estado da Defesa e Secretário Especial de Aqüicultura e Pesca da Presidência da República.

da conveniência e oportunidade socioeconômicas e do interesse nacional (inciso II, §1º do art. 8º); (ii) quando ele próprio avocar o processo para decidir em última e definitiva instância sobre a questão (inciso III, §1º do art. 8º); ou (iii) quando algum dos órgãos de fiscalização e registro citados na lei entrarem com recurso sobre a decisão da CTNBio de liberação comercial de OGM e derivados (§7º do art. 16).

O CNBS se reunirá sempre que convocado pelo Ministro de Estado Chefe da Casa Civil da Presidência da República, que o preside, ou mediante provocação da maioria dos seus membros, ou seja, seis ministros de Estado.

As reuniões são instaladas com a presença de seis de seus membros e as decisões só são tomadas com votos favoráveis da maioria absoluta.

Os ministros de Estado membros do CNBS podem ser substituídos por seus respectivos Secretários-Executivos nas reuniões do Conselho, de acordo com o Decreto 5.591/2005.

Da pesquisa à comercialização dos transgênicos no Brasil: o que dispõe a lei

Da pesquisa em regime de contenção

Conforme dito anteriormente, a primeira providência da instituição que deseje realizar pesquisa com transgênicos no Brasil é a criação de sua Comissão Interna de Biossegurança (CIBio).

Uma vez feito isso, essa comissão deve solicitar autorização à CTNBio para o desenvolvimento das atividades envolvendo OGM e seus derivados, que a concede mediante a emissão do chamado Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB). As regras para obtenção desse certificado são estabelecidas pela própria CTNBio, por meio da Resolução Normativa 1, de 20 de junho de 2006.

O Certificado de Qualidade em Biossegurança é concedido para a instituição, que deve indicar e detalhar as estruturas físicas de sua responsabilidade para as quais o CQB será concedido. Ao longo

do desenvolvimento da pesquisa, esse certificado pode ser estendido a outras instalações, mediante um novo pedido da CIBio à CTNBio, cujas regras estão estabelecidas na Resolução Normativa 1/2006.

Para obtenção do Certificado de Qualidade em Biossegurança, a CIBio da instituição interessada encaminha o pedido à CTNBio.

O requerimento deve ser protocolado na Secretaria-Executiva da CTNBio e, depois de autuado e devidamente instruído, deverá ter seu extrato prévio publicado no Diário Oficial da União e divulgado no Sistema de Informações de Biossegurança – SIB, que foi criado pela Lei 11.105/2005. O processo será então distribuído a um dos membros da CTNBio para relatoria e elaboração de parecer. O parecer será submetido a uma ou mais subcomissões setoriais permanentes ou extraordinárias da CTNBio⁵, para formação e aprovação do parecer final. O parecer final, após sua aprovação

nas subcomissões setoriais ou extraordinárias para as quais o processo foi distribuído, será encaminhado ao plenário da CTNBio para deliberação (arts. 28 a 31 do Decreto 5.591/2005).

Deve-se ressaltar que, em qualquer hipótese, se requerida por um de seus membros e aprovada por maioria absoluta, a CTNBio poderá realizar audiências públicas, garantida a participação da sociedade civil (art. 43, I do Decreto 5.591/2005).

A CTNBio sempre realiza uma análise caso a caso dos pedidos a ela submetidos, quaisquer que sejam eles. Ela poderá, a seu critério, solicitar informações complementares ao processo, que deverão ser fornecidas pela CIBio da instituição.

Após a análise do processo, a CTNBio poderá conceder ou não o certificado. Caso não o conceda, a requerente poderá interpor recurso administrativo.

⁵ De acordo com o art. 17 do Decreto 5.591/2005, a CTNBio constituirá subcomissões setoriais permanentes na área de saúde humana, na área animal, na área vegetal e na área ambiental, e poderá constituir subcomissões extraordinárias, para análise prévia dos temas a serem submetidos ao plenário.

Em caso de aprovação do CQB, a instituição estará autorizada a iniciar as suas pesquisas, que sempre se iniciam em regime de contenção, ou seja, aquelas realizadas em laboratórios ou em casas de vegetação, onde há um maior controle sobre as condições de biossegurança dos experimentos.

Da pesquisa a campo

Com o desenvolvimento dos experimentos, se os resultados forem positivos, será necessário testar o comportamento do produto geneticamente modificado a campo, principalmente do ponto de vista da sua segurança ambiental e para a realização de seu comportamento agrônômico. Também será necessário o plantio do transgênico a campo para a geração do material necessário à avaliação da segurança alimentar dele.

Para tanto, novamente a CIBio da instituição interessada deverá apresentar o pedido de liberação planejada no meio ambiente de OGM junto à CTNBio, seguindo os procedimentos estabelecidos na Resolução Normativa 6, de 6 de novembro de 2008.

Caso o pedido submetido pela CTNBio não seja aprovado, caberá recurso administrativo. Caso seja aprovado, os testes a campo poderão ser realizados pela instituição requerente.

O §3º do art. 14 da Lei 11.105/2005 estabelece que, no caso de decisão técnica favorável sobre a biossegurança no âmbito da atividade de pesquisa, a CTNBio remeterá o processo respectivo aos órgãos e entidades de registro e fiscalização do Ministério do Meio Ambiente, Saúde e Agricultura e Secretaria Especial de Aqüicultura e Pesca, para o exercício de suas atribuições.

No caso de decisões a respeito de atividades de pesquisa com OGM e derivados, isso significa dizer que o processo será encaminhado para esses órgãos apenas para cumprir as funções fiscalizatórias, uma vez que apenas essa competência é atribuída a esses órgãos, conforme previsto no inciso I do art. 16 da lei.

Já em relação às decisões no âmbito do uso comercial de OGM e seus derivados, a competência dos órgãos e entidades de registro e fiscalização é ampliada, conforme será visto a seguir.

Da liberação comercial do OGM

Uma vez concluídos os testes a campo do OGM em relação à segurança ambiental e avaliação agronômica, assim como concluída a avaliação alimentar do OGM, o próximo passo será o pedido de liberação pré-comercial ou a própria liberação comercial do transgênico.

Deve-se ressaltar que os testes a campo não são realizados apenas uma única vez. São necessários pelo menos dois anos de testes e avaliações em diferentes regiões edafoclimáticas do País, para realmente se garantir a segurança dos dados a serem apresentados à CTNBio.

Os pedidos de liberação pré-comercial ou liberação comercial do OGM são feitos novamente pela CIBio junto à CTNBio e seguem os procedimentos previstos na Resolução Normativa 5, de 12 de março de 2008, com algumas especificidades da legislação.

Uma delas é que o processo deve, obrigatoriamente, ser analisado por todas as subcomissões permanentes da CTNBio (vegetal, animal e de saúde humana) no

caso de liberação comercial de OGM e seus derivados (art. 33 do Decreto 5.591/2005).

Outra é que as audiências públicas para ouvir a sociedade civil poderão ser realizadas tanto a pedido de um dos membros da CTNBio como por parte comprovadamente interessada na matéria objeto da decisão (art. 43, II do Decreto 5.591/2005).

Essa comissão procederá a análise do ponto de vista técnico do processo, devendo realizar audiências públicas para ouvir a sociedade sobre a questão. Em relação aos aspectos da conveniência e oportunidade socioeconômicas e do interesse nacional do processo, a CTNBio poderá solicitar ao Conselho Nacional de Ministros (CNBS) que se manifeste especificamente sobre essa questão (inciso II, §1º do art. 8º).

Da mesma forma que nos outros casos, em caso de parecer favorável da CTNBio para a liberação comercial, essa deve encaminhar o processo para os órgãos de fiscalização e registro.

Só que, ao contrário do que acontece nas decisões relacionadas à pesquisa, havendo divergência desses órgãos quanto à decisão da CTNBio sobre a liberação comercial do OGM ou seus derivados, eles podem apresentar recurso ao Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS) no prazo de até 30 dias após a publicação da decisão técnica da CTNBio (§7º do art. 16 da Lei 11.105/2005). Nesses casos, caberá ao CNBS decidir em última e definitiva instância sobre a questão.

Outras disposições

Dada a importância da matéria e os riscos potenciais envolvidos, o legislador cuidou de estabelecer, na própria Lei 11.105/2005, situações em que poderão ser atribuídas responsabilidades tanto no âmbito civil e administrativo, como também na esfera criminal.

Em relação à responsabilidade civil, essa lei estabelece a obrigação de o responsável por danos ao meio ambiente e a terceiros que possam ser causados pelo desenvolvimento de atividades envolvendo OGM e seus derivados indenizar ou

reparar integralmente tais danos, independentemente de culpa. A responsabilidade civil aqui atribuída é a responsabilidade objetiva, seguindo o exemplo de nossa legislação ambiental.

Em relação à responsabilidade administrativa, a lei estabeleceu diferentes tipos de sanções para possíveis infrações às normas previstas na legislação de biossegurança, entre elas a imposição de multas. Essas multas terão seus critérios, valores e aplicação definidos pelos órgãos e entidades de registro e fiscalização referidos na lei, mas poderão variar de R\$ 2.000,00 a R\$ 1.500.000,00. Em relação à responsabilidade criminal, a Lei 11.105/2005 tipificou determinadas ações como sendo crime e estabeleceu suas respectivas penas. Destaca-se, entre essas, o fato de ser crime a liberação ou o descarte de OGM no meio ambiente, bem como a produção, armazenamento, transporte, comercialização, importação ou exportação de OGM ou seus derivados em desacordo com as normas estabelecidas pela CTNBio e pelos órgãos de fiscalização e registro.

Outra questão importante que ficou definitivamente regulada pela Lei 11.105/2005, em suas disposições finais e transitórias, foi a questão da liberação comercial da soja geneticamente modificada tolerante ao herbicida glifosato, ocorrida no Brasil em 1998.

O art. 30 dessa lei estabeleceu que os OGMs que tivessem obtido decisão técnica da CTNBio favorável a sua liberação comercial até a entrada em vigor da Lei 11.105/2005 poderiam ser registrados e comercializados, salvo manifestação contrária do CNBS, que teria um prazo de 60 dias para isso.

A soja geneticamente modificada tolerante ao herbicida glifosato enquadra-se exatamente nessa categoria e, como não houve manifestação contrária do CNBS em relação à sua liberação comercial, no prazo que lhe foi concedido, a partir da entrada em vigor da Lei 11.105/2005, essa questão foi definitivamente resolvida no Brasil, regularizando uma situação que já vinha ocorrendo de maneira ilegal no País desde muitas safras anteriores à edição dessa lei.

Reforçando essa posição, o art. 35 da referida lei autorizou definitivamente a produção e comercialização de sementes de cultivares de soja geneticamente modificada tolerantes a glifosato registradas junto ao Registro Nacional de Cultivares do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Além da soja, outro OGM que teve seu registro e comercialização liberados a partir da entrada em vigor da Lei 11.105/2005 foi o algodão geneticamente modificado resistente a insetos, também conhecido como “algodão Bt1”, de propriedade da empresa Monsanto do Brasil Ltda. Isso porque ele foi liberado pela CTNBio sob a égide da Lei 8.974/95, mediante o Parecer Técnico Prévio Conclusivo 513/2005 e cuja decisão não foi contestada pelo CNBS.

Também cuidou o legislador de garantir a continuidade das atividades que vinham sendo realizadas no Brasil envolvendo OGM e derivados nos últimos anos. Essa garantia foi estabelecida quando a Lei 11.105/2005 dispôs que todos os certificados de

qualidade em biossegurança, comunicados, decisões técnicas e atos normativos da CTNBio tomados durante a vigência da Lei 8.974/95 permanecem em vigor, desde que não contrariem as disposições na nova legislação de biossegurança (art. 32 da lei).

Outro grande avanço conseguido em relação a essa matéria foi o fim da aplicação da Lei 7.802/1989 (Lei de Agrotóxicos) aos OGMs e seus derivados, exceto para os casos em que eles sejam desenvolvidos para servir de matéria-prima para a produção de agrotóxicos (art. 39 da Lei 11.105/2005).

Essa decisão foi muito importante, especialmente do ponto de vista do avanço da pesquisa de alguns OGMs no Brasil. Antes dela, havia o entendimento por parte do Judiciário brasileiro de que determinados tipos de OGMs que estavam sendo desenvolvidos no Brasil (especificamente os resistente a vírus causadores de doenças) enquadravam-se na definição de afins de agrotóxicos dada pelo art. 2º, I, (a) da Lei 7.802/89, que regula a pesquisa e o registro de agrotóxicos no País.

Enquadrando-se, portanto, na definição de produto afim de agrotóxicos, as plantas geneticamente modificadas com características biocidas passaram, a partir de 2001, também a ser reguladas pelos dispositivos contidos na legislação de agrotóxicos.

Uma dessas exigências era a obtenção do chamado Registro Especial Temporário (RET) para OGM, cuja concessão foi regulada pela Instrução Normativa Conjunta 02/2002 do Mapa, a Instrução Normativa 24/2002 do IBAMA e a Resolução RDC 57/2002 da Anvisa.

A experiência mostrou que esse processo era extremamente burocrático, ocasionando consideráveis atrasos no desenvolvimento de pesquisas no Brasil. Cite-se o exemplo do experimento da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) com o mamão geneticamente modificado resistente ao vírus-da-mancha-anelar, que ficou paralisado entre os anos de 2001 a 2003.

Com o fim da exigência da aplicação da Legislação de Agrotóxicos

para aqueles OGMs e seus derivados que não sejam desenvolvidos especificamente para servir de matéria-prima para a produção de agrotóxicos, houve uma desburocratização considerável no processo de obtenção das necessárias licenças para pesquisa de OGM no Brasil, sem, ressalte-se, em momento algum, comprometer a segurança necessária para o desenvolvimento desse tipo de atividade. Isso porque todos os projetos envolvendo esses produtos continuam a ser rigorosamente analisados pela CTNBio em relação à sua segurança, tanto para o meio ambiente como para a saúde humana.

Considerações finais

A Lei 11.105/2005 e seu regulamento surgiram na tentativa de colocar fim ao verdadeiro caos regulatório em torno da questão de biossegurança que imperava no País após os desdobramentos da decisão da CTNBio de liberar comercialmente a soja geneticamente modificada tolerante ao herbicida glifosato.

A aprovação dessa lei representou uma grande vitória

para o desenvolvimento de pesquisas envolvendo OGM e seus derivados no Brasil, uma vez que desburocratizou, em muito, o processo em relação às necessárias autorizações para tais pesquisas, dando mais agilidade ao sistema e evitando os entraves que até então vinham sendo enfrentados pelos pesquisadores brasileiros.

A edição desse novo marco legal surgiu também para dar maior transparência e confiabilidade em torno das decisões de liberação comercial de OGM e seus derivados.

No entanto, essas promessas só se tornarão realidade com a efetiva atuação do Poder Executivo nesse sentido. A experiência tem mostrado que os atores envolvidos na correta aplicação da legislação de biossegurança vêm demonstrando levar em conta muito mais aspectos políticos ou ideológicos do que os reais interesses da sociedade brasileira.

Questões políticas ou ideológicas devem ser deixadas de lado, entendendo-se que o papel

da CTNBio ou o dos órgãos e entidades de fiscalização e registro não é excludente, mas sim complementar.

Ambos são órgãos do poder público e devem buscar atuar de forma conjunta, tendo como único objetivo o de garantir a correta avaliação da segurança ambiental de um determinado OGM ou derivado antes que ele venha a ser utilizado no Brasil.

Referências

BRASIL. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de

janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 25 mar. 2005.

BRASIL. Decreto nº 5.591, de 22 de novembro de 2005. Regulamenta dispositivos da Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, que regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 nov. 2005.

CTNBio. **Pesquisa de relação de certificados de qualidade em biossegurança concedidos pela CTNBio**. 2006. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/2267.html>>. Acesso em: 30 nov. 2006.

SAMPAIO, M. J. A. **Legislação de biossegurança no Brasil**: cenário atual. 2004. Palestra proferida na oficina de trabalho “Trajetórias e implicações da regulamentação de biossegurança no Brasil”. (CGEE, 16.12.2004)



CAPÍTULO 7

A REDE DE BIOSSEGURANÇA DA EMBRAPA

ANDRÉ NEPOMUCENO DUSI
DEISE MARIA FONTANA CAPALBO
MARIA JOSÉ AMSTALDEN MORAES SAMPAIO

A REDE DE BIOSSEGURANÇA DA EMBRAPA

Desde os anos 1990, o Brasil vem discutindo sobre os riscos e benefícios potenciais oferecidos pelos organismos geneticamente modificados – OGMs. Segurança, competitividade, desenvolvimento, propriedade intelectual estão entre os tópicos principais discutidos por cientistas, indústrias proponentes, organizações não-governamentais – ONGs, representantes do governo e órgãos regulamentadores, para mencionar alguns.

Nesse cenário, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa reconheceu a necessidade de contribuir mais intensamente no processo de desenvolvimento de OGMs. A Embrapa dá maior ênfase à avaliação de riscos ambientais e segurança alimentar desses organismos, especialmente pela carência de resultados gerados no País e pela importância de se dispor de protocolos de avaliação cuidadosamente desenhados

pela pesquisa e que oferecessem padrões de estudo altamente confiáveis para uso pelos tomadores de decisão e para o público em geral.

Assim, em 2002, a Embrapa aprovou o projeto *Rede de Biossegurança: Organismos Geneticamente Modificados – BioSeg* para gerar protocolos e informação científica, utilizando como modelo as plantas geneticamente modificadas – PGMs estudadas pela Empresa.

As PGMs da Embrapa e o Projeto *BioSeg*

O conjunto de PGMs desenvolvidas pela Embrapa, com vários parceiros, incorpora características específicas determinadas pelos diferentes genes inseridos em cultivares brasileiras. Essas PGMs devem atender aos requisitos de biossegurança estabelecidos por lei e assegurar que apresentarão níveis

adequados de segurança alimentar e ambiental, contribuindo com a sustentabilidade agrícola.

São muitos os OGMs sendo desenvolvidos pela Embrapa nos seus 37 centros de pesquisa, mas apenas as PGMs cujos eventos elite estavam identificados até 2001 participam da *BioSeg*. Ademais, as PGMs selecionadas atendem a, pelo menos, um dos seguintes critérios: apresentam possibilidade de ser produzidas em vários sistemas de produção em âmbito nacional ou regional; necessitam de atenção especial pela presença de parentes silvestres ou plantas para as quais há especial cuidado com relação a fluxo gênico; utilizam uma diversidade de processos na cadeia produtiva como alimento.

Assim, fazem parte da *BioSeg*:

- Algodão (*Gossypium hirsutum* L. var. *latifolium* Hutch) resistente a insetos.
- Batata (*Solanum tuberosum* L.) resistente ao mosaico causado pelo *Potato virus Y* (PVY).
- Feijão (*Phaseolus* sp.) resistente ao mosaico-dourado causado

pelo *Bean golden mosaic virus* (BGMV).

- Mamão (*Carica papaya* L.) resistente à mancha-anelar causada pelo *Papaya ringspot virus* (PRSV).
- Soja (*Glycine max* L.) tolerante a herbicida (glifosato).

Os elementos-chave da *BioSeg* são:

1. Desenvolver e implementar protocolos de biossegurança por meio de uma rede dinâmica, envolvendo capacidades já instaladas nos países pertencentes ao quadro da Embrapa e de instituições parceiras.
2. Promover a comunicação científica entre áreas de conhecimento complementares.
3. Favorecer uma revisão rápida e freqüente das metodologias e análises propostas pela Rede para as PGMs; incorporar novos aspectos de segurança para o ser humano e para o ambiente, tão logo eles sejam detectados por qualquer grupo nacional ou internacional.

Estrutura do Projeto *BioSeg*

O projeto foi desenhado de forma a promover a cooperação. A gerência, administrativa e de pesquisa é baseada em:

1. Um Comitê Externo
– coordenado pela Superintendência de P&D da Embrapa – que acompanha o desenvolvimento técnico e os resultados obtidos.
2. Um Comitê Gestor – CG
composto por um coordenador e dois coordenadores adjuntos, cada um dos líderes de Projetos Componentes – PC da Rede e seu co-líder, e dois secretários executivos, em um total de 15 membros. O CG acompanha o desembolso de recursos, participa e promove reuniões interativas das áreas de pesquisa, apresenta relatórios de desempenho, orienta e garante a implementação de normas e regulamentações pelos laboratórios envolvidos na Rede, prepara dossiês e formulários para autoridades de governo e contato com a mídia, entre outras atribuições. Atualmente, os membros do CG são: Deise Maria Fontana Capalbo (coordenadora da *Bioseg*), Maria José Amstalden Sampaio (coordenadora-adjunta da *Bioseg*), Marília Regini Nutti (coordenadora-adjunta da *Bioseg*), Eliana Maria Gouveia Fontes (líder do PC Algodão), André Nepomuceno Dusi (líder do PC Batata), Josias Corrêa de Faria (líder do PC Feijão), Paulo Ernesto Meissner filho (líder do PC Mamão), Mariângela Hungria (líder do PC Soja), Edison Sujii (co-líder do PC Algodão), Paulo Eduardo de Melo (co-líder do PC Batata), Murillo Lobo Júnior (co-líder do PC Feijão), Jorge Luiz Loyola Dantas (co-líder do PC Mamão), Iêda de Carvalho Mendes (co-líder do PC Soja), Edson Watanabe (secretário-executivo do CG) e Mônica Cibele Amâncio (secretária-executiva do CG).
3. Líderes de Projeto Componente
– PC (um para cada PGM em estudo na Rede) que são responsáveis pelo grupo de trabalho daquele PGM específico, que realiza e relata

os experimentos definidos e coordena todas as atividades gerenciais no âmbito de cada PC.

Inicialmente baseados na necessidade de gerar os dados requeridos pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio para a liberação comercial de cada um dos produtos, o grupo também identifica necessidades de treinamento e capacitação dos membros da equipe, buscando suprir as demandas por melhor esclarecimento da população. A *BioSeg* se apóia, até o momento, na capacidade já instalada de 12 centros de pesquisa da Embrapa estabelecidos em várias regiões do Brasil. Ademais, reconhecidos cientistas de universidades e instituições de pesquisa nacionais e internacionais têm apresentado valiosa colaboração. Todos juntos, eles constituem um grupo multidisciplinar que se dedica ao estudo dos cinco produtos indicados anteriormente – algodão, batata, feijão, mamão e soja.

O grupo que estuda a segurança ambiental avalia o impacto de cada PGM a organismos alvo e

não-alvo, além da biodiversidade associada à cultura. Os estudos são realizados dentro da área cultivada de cada uma das plantas em estudo, analisando-se os efeitos no ambiente acima e abaixo do solo, considerando o sistema de produção em uso e o agroecossistema específico da cultura. O grupo que estuda a segurança alimentar analisa fatores como: composição do produto a ser utilizado como alimento (grão, fruto ou tubérculo), efeitos do processamento e cozimento, expressão de proteínas em função do novo DNA (efeitos na funcionalidade, potencial tóxico e alergenicidade) e outros aspectos. Ensaio de laboratório e campo são propostos segundo o sistema regulatório brasileiro para cada caso. Os estudos de segurança ambiental e alimentar poderão ser ampliados em função da natureza das diferenças ou impactos observados.

Atividades já realizadas

Em face do embate legal originado em 2001 com a determinação judicial da necessidade de licenciamento ambiental para

condução de ensaios em campo, as atividades da *Bioseg* que dependiam de autorização específica, como a liberação planejada no meio ambiente, sofreram um atraso. Os estudos só foram retomados ao fim de 2003, com as autorizações para os ensaios de mamão, feijão e batata (Fig. 1).

No âmbito da *Bioseg*, dando continuidade ao propósito de qualificação de pessoal da

Embrapa e de instituições de licenciamento e fiscalização em biossegurança de PGM, como o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – Ibama e a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança — CTNBio, foi realizado em Brasília, em junho de 2005, o *Primeiro Curso de Análise de Risco de Plantas Geneticamente Modificadas* (Fig. 2). Um segundo curso ocorreu em agosto de 2005 em Campinas, SP.



Fig 1. Ensaios de campo de batata (Embrapa Hortaliças, DF), feijão (Embrapa Arroz e Feijão, GO) e mamão (Embrapa Mandioca e Fruticultura, BA).

Ainda em junho de 2005, foi promovido em Campinas o primeiro encontro de toda a equipe do projeto que atua em atividades ligadas à segurança ambiental de PGM (Fig. 3). O encontro, denominado *Workshop Ambiental*, reuniu mais de 40 participantes

de todos os PCs da *Bioseg* e teve como objetivo uma discussão e revisão de todos os protocolos que estão utilizados nos diferentes PCs. Um encontro da área alimentar foi realizado em setembro de 2005, no Rio de Janeiro, com o mesmo objetivo.



Fig. 2. Encerramento do *Primeiro Curso de Análise de Risco de Plantas Geneticamente Modificadas*, Brasília, junho de 2005.



Fig. 3. Equipe da *Bioseg* presente no *Workshop Ambiental* realizado em junho de 2005, em Campinas, SP.

Resultados esperados

Com o desenvolvimento da *BioSeg*, alguns resultados e impactos podem ser esperados. Como impactos diretos, a Embrapa contará com dados suficientes para submeter às autoridades nacionais para consideração sobre a segurança (alimentar e ambiental) de algumas das PGMs em estudo, permitindo, inicialmente, a experimentação em campo, e, posteriormente, que seja pleiteada a liberação comercial em fase posterior. Como impactos indiretos, uma vez estabelecida, a Rede, com a experiência adquirida, será um grupo de referência para futuras consultas nacionais, capaz de rapidamente organizar discussões e preparar um cenário de impactos previsíveis para outros OGMs que vierem a ser desenvolvidos.

Ao longo do desenvolvimento do projeto, a *Bioseg* vem recebendo uma demanda da Superintendência de Pesquisa e Desenvolvimento – SPD para suporte na avaliação da carteira de projetos da Embrapa. Todas as propostas de projeto que envolvem OGMs que são submetidas aos

macroprogramas da Embrapa têm sido encaminhadas ao CG para uma análise preliminar. A SPD tem também sugerido que a *Bioseg* seja mais abrangente que o projeto atual e envolva todo o trabalho com OGM na Embrapa. Entretanto, esse tópico ainda carece de uma maior discussão entre CG da *Bioseg* e a SPD para que se tenha o melhor encaminhamento da questão.

Considerações finais

O rápido avanço da biotecnologia moderna moldará as próximas décadas em seu desenvolvimento econômico. Com a autorização de testes em campo de vários OGMs (grãos, produtos e derivados), os cientistas aprenderão mais sobre como manejar os riscos e as implicações socioeconômicas do uso de OGM. Os países em desenvolvimento estão se capacitando para avaliar as aplicações dessa tecnologia em seu território, o que levará cada um desses países a desenvolver um formato mais adequado para a discussão dos aspectos de biossegurança com a sociedade.

Nos últimos 15 anos, no Brasil, muitos outros itens foram associados ao uso da modificação genética em plantas, de tal forma que, ultimamente, as discussões politizadas dominam o cenário e os princípios e resultados da ciência raramente prevalecem nas considerações finais. Ao mesmo tempo em que os diferentes setores da sociedade estão discutindo esses tópicos, acontece a expansão da área plantada com PGM, indicando que a análise de risco ambiental se tornará uma ciência proativa em vez de ser reativa.

Os próximos anos, em particular para o caso do Brasil, serão um período de desafios para se atender às necessidades de melhor capacitação de pesquisadores (incluindo em áreas de conhecimento como análise de risco e monitoramento de experimentos em campo), e também aos investimentos,

visando a permitir um salto no desenvolvimento dos trabalhos com OGMs.

Uma rede de biossegurança, como a *BioSeg*, que vem sendo desenvolvida pela Embrapa, pode fortalecer a busca por soluções a problemas críticos, endereçando-os com maior segurança para prever os impactos potenciais, positivos e negativos, para o ambiente e a alimentação.

Agradecimentos

O projeto em Rede *BioSeg* é financiado pela Embrapa (vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) e pela Finep/Fundo de Biotecnologia (agência financiadora vinculada ao Ministério de Ciência e Tecnologia).

Os autores agradecem aos membros do projeto por sua colaboração em diferentes etapas de desenvolvimento da *Bioseg*.



CAPÍTULO 8

As PLANTAS TRANSGÊNICAS E A MICROBIOTA DO SOLO

FÁBIO BUENO DOS REIS JUNIOR
IÊDA DE CARVALHO MENDES

AS PLANTAS TRANSGÊNICAS E A MICROBIOTA DO SOLO

Introdução

Em apenas um grama de solo podem ser encontradas cerca de 10 mil espécies de bactérias (TORSVIK; OVREAS, 2002). Sem dúvida, o maior celeiro de genes no planeta reside na fração microbiana da biodiversidade. Os microrganismos presentes no solo representam papel-chave na ciclagem de nutrientes e na manutenção de sua fertilidade, além de desempenhar funções como agente de controle biológico de doenças e pragas da agricultura, biorremediadores de poluentes, promotores de crescimento de plantas. Esses organismos podem apresentar, também, alto valor biotecnológico, sendo um manancial de fármacos, corantes, enzimas e ácidos orgânicos, entre muitos outros produtos ainda inexplorados.

As primeiras plantas transgênicas foram desenvolvidas ainda nos anos 1980. Desde então, diferentes

genes têm sido inseridos em grande número de culturas a fim de que expressem novas e desejáveis características. Esses genes e seus produtos, eventualmente, serão liberados nos solos, possibilitando oportunidades de ocorrer interação com a comunidade microbiana (Fig. 1). Donegan et al. (1995) sugerem que alterações não esperadas nas características das plantas, resultantes de modificações genéticas possam, igualmente, causar impacto sobre a microbiota do solo. Sendo assim, as comunidades microbianas, associadas a plantas geneticamente modificadas, podem ser diferentes das plantas que não sofreram modificações.

O desenvolvimento e o uso de plantas transgênicas têm promovido acalorado debate público nos últimos anos. As plantas transgênicas representam uma promessa para incrementar o desenvolvimento do setor agrícola. No entanto, seu potencial para

apresentar riscos indesejáveis não é completamente conhecido. Infelizmente, os organismos do solo nem sempre são lembrados nos debates e nos estudos que envolvem o uso de plantas transgênicas e seus riscos potenciais. O potencial impacto, direto ou indireto, do uso dessas

plantas sobre a comunidade microbiana do solo é uma das áreas mais carentes de informações quando o assunto é biossegurança. Na maioria dos casos, isso acontece em razão das dificuldades inerentes aos estudos que envolvem esses organismos.

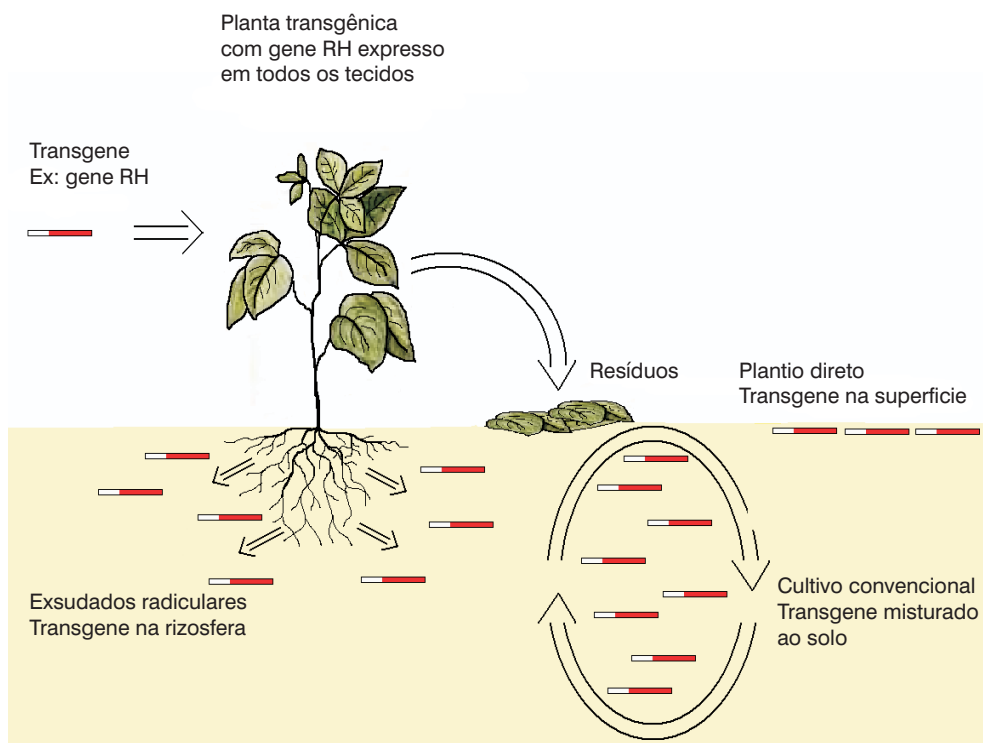


Fig. 1. Possíveis locais de interação entre transgenes e a comunidade microbiana do solo. RH, gene que confere tolerância a herbicida.

Fonte: Adaptado de Dunfield e Germida (2004).

Além de o sistema solo ser extremamente complexo e heterogêneo, é impossível para os pesquisadores, com a utilização de métodos microbiológicos clássicos, cultivar ou identificar a grande maioria dos microrganismos presentes. No entanto, com o auxílio de avanços metodológicos, especialmente a introdução de técnicas de biologia molecular, novas estratégias para o estudo das comunidades microbianas e o possível efeito do cultivo de plantas transgênicas sobre elas têm sido desenvolvidas e utilizadas.

Com o auxílio dessas técnicas, nos últimos anos, tem-se visto um incremento no número de estudos dedicados a observar os possíveis efeitos de plantas transgênicas sobre os microrganismos do solo (DUNFIELD; GERMIDA, 2004; MOTAVALLI et al., 2004; BRUINSMA et al., 2003). Todavia, é preciso ressaltar que nenhuma técnica é infalível, e a aplicação de estudos polifásicos dará uma visão mais apropriada dos efeitos das plantas geneticamente modificadas quando comparada ao uso de uma metodologia isolada. Aliados a isso, o uso de controles apropriados

nos procedimentos de avaliação de impacto e a determinação de variações que possam ocorrer naturalmente são fatores-chave para uma boa interpretação dos resultados.

É importante salientar que as plantas transgênicas e os sistemas agrícolas em que elas serão introduzidas demandam avaliações caso a caso. A complexidade dos solos e a multiplicidade de papéis desempenhados pelos microrganismos forçam os pesquisadores a fazer escolhas como quais as espécies ou grupos e quais as funções ou propriedades deverão ser mais bem examinados.

Além do efeito direto decorrente da expressão da proteína introduzida durante a transformação, existe a probabilidade de aparecimento de efeitos não esperados que resultam da inserção do transgene no genoma. Se essa inserção ocorrer no meio de uma região codificadora de proteína, sua expressão pode ser inviabilizada. Se o transgene for inserido entre uma região promotora e uma região codificadora, essa região poderá ficar sob a regulação do promotor que acompanha o

transgene, modificando dessa maneira o padrão de expressão daquele gene (RUMJANEK et al., 2005). Caso uma proteína vital não seja mais produzida, a sobrevivência do organismo estará em risco. Todavia, além dessa situação extrema, é possível que haja alteração na síntese de outras proteínas que podem se refletir nas vias metabólicas, produzindo modificações imprevisíveis (RUMJANEK et al., 2005). Nesse cenário, cada transgênico deve ser estudado não só quanto à eficiência da característica introduzida, como também quanto à possibilidade de impacto ambiental e de segurança alimentar decorrentes das alterações inesperadas (CELLINI et al., 2004).

Para estudos de impacto do uso de plantas transgênicas sobre os microrganismos do solo, Bruinsma et al. (2003) apresentam as seguintes questões a serem consideradas:

- Quais são as condições ambientais em que as plantas transgênicas serão introduzidas (tipo de solo, pH, vegetação nativa)?
- O que já é conhecido sobre a comunidade microbiana presente e suas funções-chave no solo? Existe algum grupo ou processo particularmente importante, dominante ou vulnerável?
- Qual é a natureza e qual é a origem do(s) gene(s) introduzido(s) na planta? Quando e em qual(is) órgão(s) esse gene será expresso?
- O modo de ação do material genético inserido age sobre um organismo específico ou confere-lhe uma propriedade mais geral que pode afetar uma gama maior de organismos?
- Como se dá a exposição dos microrganismos do solo ao produto da transformação genética? Quão longa é essa exposição?

As respostas a essas perguntas devem ajudar a determinar quais microrganismos do solo ou processos podem ser afetados pela introdução de uma planta transgênica específica. Porém, nosso conhecimento sobre os efeitos potenciais ainda será

incompleto e efeitos inesperados não podem ser descartados. Portanto, alguns parâmetros podem ser verificados em todos os casos, a fim de englobar mudanças no solo não ligadas diretamente à previsão obtida com as repostas àquelas cinco perguntas anteriores. Deve-se identificar e buscar grupos de microrganismos específicos e processos que aparentemente possam ser susceptíveis à introdução de uma planta transgênica, levando em consideração a origem e a função do gene inserido e o conhecimento do ambiente em que essas plantas serão introduzidas. Seria interessante utilizar, também, análises mais gerais que pudessem detectar efeitos fora do escopo dos grupos e processos previamente escolhidos. Tais análises deveriam avaliar a comunidade microbiana em sua totalidade, de preferência com uma combinação de metodologias. Se essas análises revelassem efeitos inesperados, esses poderiam ser examinados mais detalhadamente.

Bruinsma et al. (2003) citam alguns grupos como potenciais indicadores

por serem acessíveis experimentalmente e apresentarem características importantes e reconhecidas no sistema solo. São eles:

- Fungos micorrízicos: as associações micorrízicas podem ser bastante sensíveis a diversos fatores, incluindo perturbações físicas, uso de fertilizantes e alterações nas espécies de plantas em determinada área.
- Bactérias diazotróficas (fixadoras de N_2): também são sensíveis a alterações que ocorrem no sistema solo. Têm papel de destaque no ciclo do N e vários métodos estão disponíveis para que possam ser estudadas.
- Bactérias nitrificadoras: o processo de nitrificação, importante na ciclagem do N do solo, parece ser limitado a um número restrito de bactérias autotróficas (HOOPER, 1990) e estresses ambientais podem afetar severamente sua atividade (ATLAS; BARTHA, 1998).
- Fungos decompositores: a baixa redundância desse

grupo de organismos, sua sensibilidade e a importância do processo de degradação da lignina são características de um bom indicador (BODDY; WATKINSON, 1995).

- Antagonistas (*Pseudomonas* spp.; *Trichoderma*): alterações nas populações desses organismos podem ter implicações importantes para a dinâmica de populações nos solos (GYAMFI et al., 2002).

No Brasil, alguns trabalhos envolvendo questões de biossegurança e plantas transgênicas estão sendo conduzidos no campo. Esses trabalhos são muito recentes, já que as normas que regem esses estudos foram definidas há pouco tempo. Por essa razão, ainda não existem resultados disponíveis de estudos conduzidos no País. Portanto, neste capítulo, serão apresentados os resultados de trabalhos conduzidos por diversos pesquisadores estrangeiros, focando os parâmetros avaliados e as técnicas utilizadas para analisar as comunidades microbianas.

Entre os potenciais efeitos do uso de plantas transgênicas sobre a microbiota do solo, estão: alterações na atividade e na diversidade de microrganismos em resposta a mudanças na quantidade e na composição de exsudados radiculares; alterações provocadas por mudanças no manejo como aplicações de pesticidas e preparo do solo; mudanças genéticas e funcionais resultantes da transferência horizontal de genes das plantas transgênicas para microrganismos do solo (DUNFIELD; GERMIDA, 2004; MOTAVALLI et al., 2004).

Plantas transformadas para exsudação de novos compostos

Oger et al. (2000) estudaram plantas modificadas (*Lotus corniculatos* cv. Rodéo) para a produção de opinas. As opinas são geralmente compostos de baixo peso molecular, derivados de aminoácidos ou açúcares, e podem ser utilizadas como fonte de nutrientes por algumas bactérias. O estudo de Oger et al. (2000) é baseado na seguinte

possibilidade: a exsudação de opinas pelas plantas transgênicas favorece o crescimento de microrganismos que utilizam esses compostos, garantindo a eles uma vantagem seletiva sobre a porção da comunidade microbiana incapaz de utilizá-los. Esses autores trabalharam com plantas transformadas (produtoras de opinas) e não-transformadas de *Lotus corniculatus* cv. Rodéo, em um experimento de casa de vegetação. Depois de 20 semanas, a contagem de bactérias totais em meio de cultura foi similar para todos os tratamentos. No entanto, o número de utilizadores de opinas foi maior (até 475 vezes) ao redor do sistema radicular das plantas transgênicas. A remoção das plantas não levou ao desaparecimento do padrão observado após a introdução das linhagens modificadas, pelo menos, durante o período do experimento (22 semanas). No entanto, quando as plantas transgênicas foram substituídas pelas plantas-controle, o número de utilizadores de opinas tendeu a decrescer ao longo do tempo, mostrando que o efeito produzido por essas

plantas pode ser reversível. Os resultados apresentados nesse trabalho mostram que, mesmo pequenas alterações, como a produção de um simples composto adicional pela planta, podem levar a mudanças na microflora bacteriana associada. No caso desse tipo de transformação em que existe uma população microbiana que pode ser claramente definida como alvo, foi possível demonstrar o efeito do cultivo de transgênicos apenas avaliando essas populações, o que, no entanto, não elimina a possibilidade de efeitos sobre outros grupos microbianos, especialmente, quando se considera a cadeia trófica presente na comunidade do solo (RUMJANEK et al., 2005).

Plantas transgênicas resistentes a doenças

As primeiras plantas transgênicas, modificadas com a intenção de melhorar a resistência contra bactérias fitopatogênicas nativas do solo, foram as batatas transformadas para produzir a Lisozima-T4, uma enzima bacteriolítica detectada em diversas espécies de plantas,

buscando resistência contra *Erwinia carotovora* subsp. atroseptica (DÜRING et al., 1993). A princípio descobriu-se que várias outras bactérias ou fungos também são sensíveis a lisozima T4 in vitro (DE VRIES et al., 1999). Dessa maneira, a expressão da lisozima T4 apresenta potencial para promover alterações na estrutura das comunidades microbianas do solo.

Lottman et al. (1999) avaliaram populações de bactérias do solo num experimento no qual foram utilizadas duas linhagens (DL4 e DL5) de plantas produtoras da T4 / lisozima; uma outra linhagem (DC1) carregando a mesma construção gênica, mas sem o gene responsável pela produção da lisozima e a variedade parental não transgênica DES como controle não transformado. Os resultados obtidos mostraram que o número de bactérias aeróbias, associadas à rizosfera de plantas transgênicas produtoras de lisozima, não foi significativamente diferente daquele obtido das plantas-controle. O mesmo foi observado para populações de bactérias com propriedades antifúngicas e

produtoras de AIA (ácido-indol-3-acético). Sete espécies de bactérias benéficas antagonistas a *E. carotovora* e a *Verticillium dahliae*, que representavam 9,7 % de todas as 124 antagonistas identificadas, foram isoladas apenas das plantas-controle.

Em outro trabalho, Lottman et al. (2000) avaliaram o comportamento de duas estirpes de bactérias antagonistas e produtoras de AIA, *Serratia grimesii* L16-3-3 (isolada apenas de plantas controle e sensível a lisozima-T4 in vitro – LOTTMAN et al., 1999) e *Pseudomonas putida* QC14-3-8 (isolada de plantas de batata transgênicas e tolerantes a lisozima – T4 in vitro – LOTTMAN et al., 1999). Essas bactérias com marcadores de resistência à rifampicina foram inoculadas em plantas de batata transgênicas produtoras de lisozima-T4 (linhagem DL5), em controle transgênico sem o gene da lisozima (linhagem DC1) e na linhagem-controle não transformada (DES). Avaliando a presença das estirpes inoculadas na rizosfera das plantas pela contagem em placas e a diversidade total de bactérias, utilizando a técnica de eletroforese

em gel com gradiente desnaturante (DGGE), os autores concluíram que não houve efeito negativo da lisozima-T4 sobre as bactérias da rizosfera, incluindo aquelas que foram inoculadas. Na verdade, durante o período de florescimento, foram encontradas mais colônias de *Pseudomonas putida*, tolerantes à lisozima, associadas à linhagem transgênica DL5. Nesse caso, os autores constataram que a produção de lisozima pode incrementar o estabelecimento de bactérias tolerantes e, se essas bactérias tiverem propriedades antagonistas, podem promover efeitos sinérgicos.

Heuer et al. (2002) conduziram outro estudo de campo, em duas áreas distantes, por três anos, mostrando que a estrutura da comunidade microbiana da rizosfera de plantas transgênicas de batata T4-lisozima, linhagem DL4, diferenciava-se de uma segunda linhagem transgênica (DL5), do controle transgênico sem o gene da lisozima (DC1) e da linhagem controle não transformada (DES). Nesse trabalho, as comunidades bacterianas foram analisadas sob três abordagens

diferentes, com o intuito de buscar complementaridade entre elas. Na primeira abordagem, a abundância relativa das espécies bacterianas na rizosfera foi determinada com base no cultivo e na caracterização de isolados por análises do perfil de ácidos graxos; na segunda, permitiu analisar o perfil catabólico das comunidades utilizando microplacas Biolog GN (GARLAND; MILLS, 1991); e, na terceira, fragmentos amplificados do gene da região 16S rRNA, provenientes do DNA total extraído da rizosfera das plantas, foi analisado pela técnica de DGGE ou por clonagem e seqüenciamento.

A média do tamanho das populações bacterianas na rizosfera das plantas, ao longo de dez coletas, não foi estatisticamente diferente entre as linhagens produtoras de lisozima e as plantas controle. O perfil catabólico potencial da comunidade microbiana associada à rizosfera da linhagem DL4 foi significativamente diferente das demais linhagens. Bandas de DGGE, específicas para linhagens produtoras de lisozima ou para plantas controle, não foram observadas, indicando

que linhagens diferentes ou a produção de lisozima não afetaram a abundância de espécies bacterianas na rizosfera. Diferenças na composição de espécies ou gêneros, acessados com o seqüenciamento, não foram consistentes. Porém, comparadas a outras linhagens, notou-se grande abundância do gênero *Pseudomonas* na rizosfera de DL4 (HEUER et al., 2002). Os autores desse trabalho destacaram que fatores ambientais tiveram maior influência sobre a estrutura da comunidade microbiana do que a natureza transgênica das plantas. As diferenças apresentadas pela linhagem DL4 parecem estar mais ligadas a outras características dessas plantas que apresentaram significativamente uma biomassa radicular reduzida, colmos mais curtos e folhas menores em plantas jovens, além de um progresso mais rápido de senescência em plantas mais velhas.

Nessa série de estudos, nos quais foram aplicados métodos dependentes do cultivo dos microrganismos e métodos independentes de cultivo (métodos de biologia molecular), foram

detectadas diferenças no número e na diversidade das bactérias; no entanto, esses efeitos não pareceram ser resultado direto da produção da lisozima (LOTTMANN; BERG, 2001; HEUER et al., 2002). Os autores concluíram que o efeito da lisozima foi apenas um fator menor comparado às mudanças naturais que ocorreram nas comunidades microbianas dos solos (HEUER et al., 2002). Essa conclusão foi baseada em resultados de vários projetos relacionados, oferecendo uma quantidade robusta de dados, em virtude da natureza polifásica das metodologias aplicadas, da utilização de controles (testemunhas) necessários e de análises ao longo de várias épocas e anos.

Cowgill et al. (2002) estudaram o efeito, sobre microrganismos do solo, do cultivo de plantas de batata transgênica com expressão de cistatinas (inibidores cisteína proteinase) que conferem resistência parcial a nematóide de cisto. No primeiro ano de estudo, foram avaliadas duas linhagens transgênicas (D6/7 e D5/13) que continham seqüências que

codificavam para uma cistatina presente em ovos de galinha (CEWc) (URWIN et al., 2001). Já no segundo ano, a linhagem transgênica (D9/31) continha uma versão modificada da cistatina encontrada em arroz (Oc-1ΔD86) (URWIN et al., 2001). Também no segundo ano, foram feitas comparações entre o cultivo da linhagem transgênica e a utilização de nematicidas à base de carbamato. Durante os dois anos, a cultivar Desirée, não transformada, foi utilizada como controle. As plantas foram cultivadas em solo infestado com nematóides-de-cisto das espécies *Globodera pallida* e *G. rostochiensis*. A atividade (medida por meio da respiração basal) e a estrutura da comunidade microbiana (análise do perfil de ácidos graxos) foram avaliadas em três diferentes coletas durante o crescimento da cultura.

Os resultados do trabalho descrito acima revelaram que, no primeiro ano de estudo, não houve diferenças quanto ao total de ácidos graxos ou atividade microbiana entre solos coletados sob cultivo de plantas transgênicas ou o controle não transformado. No entanto,

foi observada uma alteração na estrutura da comunidade microbiana em algumas situações. Na última coleta, a quantidade de ácidos graxos relativos a fungos foi incrementada na rizosfera da linhagem D6/7. Porém, não foram encontrados ácidos graxos de fungos em solo de rizosfera da linhagem D5/13, sugerindo que o crescimento de fungos foi significativamente inibido pelo cultivo dessa linhagem (COWGILL et al., 2002). No segundo ano de estudo, a quantidade total de ácidos graxos foi reduzida nos tratamentos contendo plantas transgênicas ou onde o carbamato foi aplicado. Os ácidos graxos relacionados aos fungos foram reduzidos apenas nos tratamentos com plantas transgênicas, enquanto aqueles relacionados a bactérias foram reduzidos em ambos os tratamentos: plantas transgênicas ou carbamato. No entanto, a maior parte das variações foi atribuída aos períodos de coleta. Os autores não souberam explicar como as cistatinas produzidas pelas plantas transgênicas apresentaram efeitos adversos sobre os microrganismos. Eles sugerem, no entanto,

que as alterações observadas, provavelmente, são resultado de alterações na composição de exsudados radiculares das plantas transgênicas e não da inibição da atividade de proteinases microbianas.

Vierheilig et al. (1993) estudaram os efeitos de plantas transgênicas da espécie *Nicotiana sylvestris* sobre organismos específicos, importantes para a cultura. Essas plantas foram transformadas para a expressão de quitinase, visando melhorar suas defesas contra fungos fitopatogênicos que contenham quitina. Todavia, fungos benéficos, como os micorrízicos, também poderiam ser afetados. Para testar essa hipótese, plantas transgênicas de *Nicotiana sylvestris* foram inoculadas com fungos micorrízicos (*Glomus mosseae*), fungos fitopatogênicos (*Rhizoctonia solani*) ou com ambos os microrganismos. Os níveis de infecção foram estimados com a utilização de um estereomicroscópio de acordo com o método das interseções. As plantas modificadas tiveram redução na susceptibilidade à colonização pelo patógeno

de raízes *R. solani*, mas foram normalmente colonizadas pelo fungo micorrízico. Esses efeitos distintos, provavelmente, derivam das diferenças de susceptibilidade da quitina das paredes celulares desses fungos.

Turrini et al. (2004) avaliaram os efeitos de plantas de berinjela (*Solanun melongena*) transformadas para a expressão de uma proteína antifúngica (Dm-AMP1), conhecida como defensina. As plantas transformadas mostraram resistência ao fungo patogênico *Botrytis cinerea*, cujo desenvolvimento nas folhas foi reduzido de 36 % a 100 %, em comparação com as plantas controle não transformadas. Em bioensaios feitos no laboratório, mostrou-se que a defensina foi liberada por meio de exsudados radiculares das plantas transgênicas, o que não interferiu no estabelecimento da simbiose com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus mosseae*. Por sua vez, o crescimento do fungo patogênico *Verticillium albo-atrum* foi reduzido (49 % a 71 %). Os autores afirmam que as razões de o fungo micorrízico não ter sido

afetado pela defensina ainda devem ser estudadas. No entanto, como as defensinas estão entre vários compostos de defesa produzidos por diferentes plantas, há hipóteses de que os fungos micorrízicos arbusculares tenham desenvolvido tolerância a esse tipo de proteína.

Plantas transgênicas resistentes a pragas

Muitas espécies de plantas importantes para a agricultura têm sido transformadas para produção de endotoxinas originárias de diferentes subespécies da bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Apesar de a maioria dessas toxinas apresentar especificidade, seus efeitos em organismos não-alvo ainda não foram completamente avaliados. A toxina do milho *Bt*, por exemplo, é introduzida no solo por meio da exsudação radicular e incorporação dos resíduos da cultura após a colheita. Uma vez no solo, a toxina pode apresentar efeitos diretos sobre a comunidade microbiana, o que ainda não foi comprovado, ou efeitos indiretos, uma vez que a ação inseticida da toxina pode interferir em populações específicas da fauna

do solo que estão associadas a populações de microrganismos (RUMJANEK et al., 2005).

Alguns estudos foram conduzidos visando a observar os possíveis efeitos do cultivo de plantas de milho transgênico contendo o gene *Cry1Ab* de *B. thuringiensis*, que codifica para a produção de uma proteína inseticida que mata pragas da ordem lepdoptera. Um dos resultados apresentados nesses estudos destaca que a toxina inseticida originária dos exsudados de raízes, assim como do pólen e resíduos das culturas, pode ligar-se rapidamente a minerais de argila, ácidos húmicos e complexos organominerais que protegem a toxina da degradação microbiana (SAXENA et al., 2002). A toxina ligada retém sua atividade inseticida e sua persistência no solo e pode ser observada até 234 dias (SAXENA et al., 1999). Como resultado de sua ligação a superfícies de partículas do solo, as toxinas podem ser acumuladas no ambiente em concentrações que poderiam constituir malefícios para organismos não-alvo, entre eles os microrganismos. Todavia, a presença da toxina inseticida

de culturas *Bt*, geralmente, não tem apresentado efeitos significativos sobre as populações de organismos do solo. Saxena e Stotzky (2001a) não observaram nenhum efeito aparente da toxina de milho *Bt* aderida aos solos em minhocas, nematóides, protozoários, bactérias (incluindo actinomicetos) e fungos.

Flores et al. (2005) conduziram um estudo sobre a decomposição, no solo, da biomassa de plantas transgênicas *Bt* visando a compará-la à das plantas não-transgênicas. Os resultados obtidos apontam para uma menor decomposição das plantas *Bt*. Os autores destacam que aparentemente isso não foi resultado de inibição da atividade dos microrganismos do solo, já que as populações de bactérias e fungos, assim como a atividade de enzimas representativas daquelas que estão envolvidas no processo de decomposição, não foram consistentes ou significativamente diferentes entre as plantas transgênicas e não-transgênicas. As razões para essa menor biodegradação da biomassa de plantas *Bt* ainda não é conhecida. No entanto, no

caso do milho, Saxena e Stotzky (2001b) mostraram que plantas *Bt* apresentaram maiores teores de lignina quando comparadas com suas isolíneas não-transgênicas e, logicamente, isso pode ter influência sobre as taxas de decomposição da biomassa dessas plantas. Essas diferenças podem ser resultado de um efeito inesperado da transgenia, uma vez que a introdução do DNA que codifica a toxina *Bt* não deveria estar interferindo com a síntese de lignina (RUMJANEK; FONSECA, 2003). A relevância ambiental e ecológica dessas observações também não é clara. A menor decomposição da biomassa de plantas *Bt* poderia trazer benefícios, já que a matéria orgânica derivada dessas plantas poderia persistir por mais tempo e acumular em altos níveis no solo, podendo melhorar sua estrutura e reduzir a erosão. Em contraste, a persistência da biomassa dessas plantas poderia estender o tempo em que as toxinas estariam presentes no solo, aumentando a possibilidade de prejuízos a organismos não-alvo e a seleção de insetos-praga resistentes à toxina (FLORES et al.,

2005; FERRÉ et al., 1995).

Plantas transgênicas tolerantes a herbicidas

Um efeito em potencial da aplicação de herbicidas é o estímulo ou a inibição da comunidade microbiana e dos processos por ela mediados. De modo geral, herbicidas aplicados nos solos afetam potencialmente a microbiota do solo, como acontece com qualquer composto químico introduzido em um ambiente natural.

Herbicidas cujo ingrediente ativo é o glifosato inibem a síntese dos aminoácidos aromáticos, portanto, seu efeito tóxico sobre as comunidades microbianas do solo pode ocorrer em virtude da paralisação da síntese desses aminoácidos nos microrganismos que possuem a mesma enzima sensível (EPSPS) das plantas. No entanto, várias espécies de bactérias do solo são capazes de metabolizar o glifosato, por exemplo, *Pseudomonas* sp. (JACOB et al., 1988) e *Arthrobacter* sp. (PIPKE et al., 1987). Essas bactérias possuem uma carbono-

fosfato liase que hidroliza o glifosato formando sarcosina e fosfato inorgânico, permitindo que elas utilizem esse fosfato como fonte de fósforo.

A inibição do crescimento de fungos micorrízicos pela aplicação de glifosato foi demonstrada por Chakravarty e Chatarpaul (1990), quando esses microrganismos foram expostos a concentrações maiores que 50 µL de ingrediente ativo (ia) L⁻¹ em meio de cultura. No entanto, como o glifosato tem vida relativamente curta no solo, é esperado que, em estudos de campo, a toxidez observada seja menor que em estudos de laboratório. Sendo assim, experimentos de campo são necessários para validar os dados obtidos com a utilização de testes em meio de cultura.

Ao contrário dos resultados obtidos em laboratório, a aplicação de glifosato, na maioria dos estudos de campo, ou não mostra efeitos ou apresenta pequeno estímulo sobre os microrganismos do solo (BUSSE et al., 2001). Essa discrepância entre esses estudos pode ser explicada parcialmente

pelas altas concentrações de herbicidas utilizadas em grande parte dos trabalhos em laboratório. As diferenças na toxicidade do glifosato entre os meios de cultura artificiais e o solo aparentemente refletem sua natureza química, sua toxicidade e característica de um composto polar que pode ser rapidamente inativado nos solos pela adsorção físico-química (BUSSE et al., 2001).

Busse et al. (2001) usaram diferentes estratégias para avaliar os possíveis efeitos tóxicos do glifosato sob a comunidade microbiana do solo, utilizando áreas de plantio de pinheiros que incluíam tratamentos com histórico de 13 anos com aplicações anuais de glifosato. Os efeitos diretos do glifosato sobre a comunidade microbiana dos solos estudados foram avaliados com a utilização de meios de cultura com diferentes concentrações de glifosato (0 mM, 25 mM, 50 mM e 500 mM). Essa adição do glifosato ao meio de cultura resultou na redução do número de bactérias cultiváveis e fungos obtidos das amostras de solo dos plantios de pinheiros. Nesse mesmo trabalho, a

respiração dos solos foi medida em bioensaios no laboratório 10 dias após a aplicação de glifosato como ingrediente ativo (0 mg kg⁻¹, 5 mg kg⁻¹, 50 mg kg⁻¹, 500 mg kg⁻¹) ou formulação comercial (0 mg ia kg⁻¹, 5 mg ia kg⁻¹, 50 mg ia kg⁻¹, 500 mg ia kg⁻¹, 5.000 mg ia kg⁻¹). Diferentemente do que ocorreu nos estudos com meio de cultura, o glifosato, quando aplicado em concentrações equivalentes às aquelas recomendadas no campo, não apresentou efeitos sobre a respiração dos solos, que foi estimulada quando concentrações mais elevadas foram empregadas. Esse estímulo pode ter sido a expressão de populações de organismos capazes de degradar o glifosato sob condições de saturação.

Nos trabalhos de campo, as características microbiológicas do solo na profundidade de 0 cm a 10 cm geralmente foram inalteradas após 9 ou 13 anos de uso contínuo do glifosato (BUSSE et al., 2001). Os efeitos do glifosato foram mínimos quando comparados aos efeitos das áreas (diferenças entre solos) e datas de coletas que mostraram maior influência sobre

o tamanho das populações e sua atividade. Esses experimentos de campo incluíram comparações entre solos com diferentes quantidades de argila, óxidos e matéria orgânica, em plantações de pinheiros que variavam de pouco a muito produtivas, no norte do Estado da Califórnia (Estados Unidos). Os resultados foram geralmente consistentes para todos os índices, solos e datas de coleta e mostraram que aplicações simples ou repetidas de glifosato, nas concentrações recomendadas, tiveram pouco efeito sobre as comunidades microbianas.

Para avaliar se a introdução do gene EPSPS resistente da *Agrobacterium* promoveria alterações nas plantas que poderiam influenciar a microbiota do solo rizosférico, Dunfield e Germida (2001) compararam quatro variedades de canola transgênica resistente a herbicida com quatro variedades convencionais que foram cultivadas em quatro diferentes localidades no Canadá. A comunidade microbiana da rizosfera dessas plantas foi caracterizada por três anos com a utilização das metodologias de

contagem em placas com meio de cultura, análise do perfil de ácidos graxos (FAME) e padrões catabólicos das comunidades microbianas (Biolog — PCCM). Nenhuma das variedades de canola afetou significativamente o número total de unidades formadoras de colônia da rizosfera e do interior das raízes. Todavia, os resultados apresentados demonstraram que a variedade transgênica Quest mostrou uma comunidade microbiana, associada a sua rizosfera, diferente das demais variedades estudadas (transgênicas e não-transgênicas). É importante ressaltar que a variedade Quest é a única resistente a glifosato, sendo as outras três variedades transgênicas resistentes ao glufosinato de amônio.

Em 2003, Dunfield e Germida publicaram outro trabalho semelhante, avaliando a comunidade microbiana do solo sob uma variedade geneticamente modificada (Quest), uma variedade convencional (Excel) e o solo não cultivado. Em dois anos de estudo, em duas áreas diferentes, foram feitas, a cada ano, seis coletas ao longo do desenvolvimento

da cultura. Dessa vez, além do PCCM e do FAME, foi incluída a técnica de análise de restrição dos fragmentos terminais do DNA ribossomal (T-ARDRA), que permite acessar informações sobre a porção não-cultivável da comunidade microbiana. Os resultados apresentados sugerem que as diferentes variedades tiveram influência significativa sobre as análises de PCCM, FAME e T-ARDRA. Entretanto, as alterações na estrutura das comunidades microbianas em solos sob plantas de canola transgênicas não foram permanentes. As diferenças observadas foram dependentes da época de amostragem, por isso, as comunidades não foram diferentes ao longo de todo o desenvolvimento da planta.

Nesses estudos, a variedade (Quest) não foi comparada com sua parental não-transgênica; portanto, não fica claro se essas diferenças foram causadas pela modificação genética (LYNCH et al., 2004). Essas diferenças, provavelmente, podem ser decorrentes de alterações não esperadas e indicam que, nesse caso, não existe apenas o efeito do gene inserido, mas de

outras alterações no genoma da planta que precisam ser objeto de investigação. A caracterização de exsudados radiculares e estudos adicionais com mais variedades glifosato-tolerantes poderiam ser interessantes para confirmação do que foi observado nesses trabalhos.

Transferência horizontal de genes

Dependendo da natureza do transgene a ser introduzido no ambiente, pode ser importante o monitoramento da transferência horizontal de genes, especialmente, em populações microbianas com estreita relação com as plantas. Alguns estudos, em condições de laboratório, já demonstraram a possibilidade da transferência horizontal de genes de organismos geneticamente modificados (OGMs) para microrganismos nativos do solo (NIELSEN et al., 2000). No entanto, esse fenômeno ainda não foi relatado em experimentos de campo (DUNFIELD; GERMIDA, 2004).

Para que ocorra transferência horizontal de genes de plantas transgênicas para as bactérias do

solo, o DNA liberado dos tecidos e células da planta deve estar disponível no solo e bastante próximo a bactérias competentes. Isso se traduz em um fator bastante limitante para a ocorrência dessa transferência de genes. Somando-se ao fato da rápida degradação inicial que o DNA das plantas sofre no ambiente, a frequência da possível transferência de algum de seus genes para os microrganismos provavelmente é bastante baixa, sendo restrita a microhabitats que contêm resíduos de tecidos dessas plantas e DNA complexado em partículas do solo (GEBHARD; SMALLA, 1999; DUNFIELD; GERMIDA, 2004). A persistência do DNA da planta no solo está relacionada a vários fatores abióticos e bióticos, como conteúdo e tipos de minerais de argila e presença de DNase (GEBHARD; SMALLA, 1999).

Os métodos para monitorar a transferência horizontal de genes em amostras ambientais são considerados pouco sensíveis. Segundo estimativas, para ser relevante, a análise de risco dessa transferência de genes nos solos deveria permitir a

detecção de transformações à frequências menores que 10^{-17} . Obviamente, nenhum trabalho publicado até hoje mostrou esse poder (HEINEMANN; TRAAVIK, 2004). Heinemann e Traavik (2004) acreditam que a possibilidade da transferência horizontal de genes e suas conseqüências têm sido minimizadas em discussões sobre análises de risco do uso de plantas transgênicas. Ao contrário de outros pesquisadores, eles afirmam que novas metodologias para o monitoramento da transferência horizontal de genes no ambiente, mais sensíveis e representativas, devem ser desenvolvidas urgentemente.

Quando a transferência horizontal de genes é considerada em análises de risco, deve-se levar em conta não apenas a possibilidade da transferência em si, como também uma análise crítica de suas conseqüências para a saúde e o ambiente. Em se tratando de segurança ambiental, deve ser considerado o tipo de impacto em um contexto ecológico e geográfico. No caso de plantas transgênicas que expressam as toxinas Bt, por exemplo, a presença

natural de *Bacillus thuringiensis* nos solos foi considerada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (EPA) como fator que reduz o impacto da utilização dessas plantas, mesmo se ocorresse transferência horizontal de genes para os microrganismos do solo (MENDELSON et al., 2003).

Considerações Finais

Bruinsma et al. (2003) destacam que, para que possamos melhorar nosso entendimento acerca desses resultados, necessitamos avançar no conhecimento das comunidades microbianas do solo, pois ainda não conhecemos completamente todos os aspectos funcionais dessas comunidades e temos um conhecimento limitado das variações naturais que ocorrem em repostas a fatores como clima, rotação de culturas, uso de fertilizantes, aplicação de agroquímicos. Motavalli et al. (2004) afirmam que até o momento nenhuma evidência conclusiva foi apresentada mostrando que o cultivo de plantas transgênicas esteja causando efeitos significativos sobre os processos

que ocorrem nos solos.

Dunfield e Germida (2004) concluíram, após revisão de vários trabalhos, que os resultados encontrados parecem indicar que a diversidade microbiana pode ser alterada quando associada com plantas transgênicas. No entanto, esses efeitos são menores em comparação com aqueles proporcionados por fatores como o solo e o clima. Trabalhos futuros, relativos a efeitos do cultivo de plantas transgênicas sobre os microrganismos do solo, devem envolver experimentos de longa duração e comparações não apenas com o cultivo de plantas não-transgênicas, mas também com outras alterações aceitáveis nos agroecossistemas, como o cultivo de uma nova cultura não-transgênica ou a utilização de uma prática de manejo diferente.

Todos concordam que existem perigos em potencial e que há necessidade de regulamentação para que tais perigos sejam medidos de forma comparativa e adequada, visando a decidir sobre o seu risco. Entretanto, não se pode esquecer que as

decisões sobre biossegurança terão de ser tomadas na ausência de um conhecimento completo sobre todos os efeitos benéficos e adversos que envolvem os OGMs. E se houver algum risco, as medidas regulatórias devem permitir a decisão de como manejá-los ou contê-los (CAPALBO, 2005).

Com o intuito de atender a demanda por conhecimentos relacionados à biossegurança de plantas transgênicas, a Embrapa iniciou em 2002 uma rede de pesquisa dedicada a avaliar tanto a segurança alimentar quanto o impacto ambiental advindos do uso dessa tecnologia. Essa rede multidisciplinar de pesquisa (Rede de Biossegurança de OGM da Embrapa - BioSeg) tem entre seus objetivos: desenvolver e implementar protocolos de biossegurança, envolvendo capacidades já instaladas no País; promover a comunicação científica entre áreas de conhecimento complementares; favorecer uma revisão rápida e freqüente das metodologias e análises propostas para avaliação de OGMs. Os trabalhos que têm englobado aspectos de segurança ambiental

avaliam a possibilidade de impacto de cada OGM sobre organismos-alvo e não-alvo, além da biodiversidade associada à cultura. São considerados os efeitos no ambiente, acima e abaixo do solo, levando-se em consideração aspectos como os sistemas de produção e o agroecossistema específico de cada cultura.

A prática da agricultura representa impacto inevitável sobre o ambiente, portanto é necessário buscar o melhor balanço entre a produção agrícola, a biodiversidade e as preocupações da sociedade. Nesse contexto, não se pode ignorar os avanços da biotecnologia, procurando utilizá-los de maneira eficiente, responsável e segura.

Referências

ATLAS, R. M.; BARTHA, R. **Microbial ecology**: fundamentals and applications. 4th ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 1998.

BODDY, L.; WATKINSON, S. C. Wood decomposition, higher fungi, and their role in nutrient redistribution. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, p. S1377-S1383, 1995.

BRUINSMA, M.; KOWALCHUK, G. A.; VAN VEEN, J. A. Effects of genetically modified plants on microbial communities and processes in soil.

Biology and Fertility of Soils, v. 37, p. 329-337, 2003.

BUSSE, M. D.; RATCLIFF, A. W.; SHESTAK, C. J.; POWERS, R. F. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 1777-1789, 2001.

CAPALBO, D. M. F. Estado da arte em estudos de biossegurança ambiental de organismos geneticamente modificados e a prática da Embrapa. In: CURSO DE CAPACITAÇÃO EM ANÁLISE DE RISCO DE PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS, 2005, Brasília, DF. **Anais...** Brasília: Embrapa, 2005. 1 CD-ROM.

CELLINI, F.; CHESSON, A.; COLQUHOUN, I.; CONSTABLE, A.; DAVIES, H. V.; ENGEL, K. H.; GATEHOUSE, A. M. R.; KARENLAMPI, S.; KOK, E. J.; LEGUAY, T. J.; LEHESRANTA, S.; NOTEBORN, H. P. J. M.; PEDERSEN, J.; SMITH, M. Unintended effects and their detection in genetically modified crops. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1089-1125, 2004.

CHAKRAVARTY, P.; CHATARPAL, L. Non-target effect of herbicides: I. Effect of glyphosate and hexazinone on soil

microbial activity: microbial population, and in-vitro growth of ectomycorrhizal fungi. **Pesticide Science**, v. 28, p. 233-241, 1990.

COWGILL, S. E.; BARDGETT, R. D.; KIEZEBRINK, D. T.; ATKINSON, H. The effect of transgenic nematode resistance on non-target organisms in the potato rhizosphere. **Journal of Applied Ecology**, v. 39, p. 915-923, 2002.

DE VRIES, J.; HARMS, K.; BROER, I.; KRIETE, G.; MAHN, A.; DURING, K.; WACKERNAGEL, W. The bacteriolytic activity in transgenic potatoes expressing the T4 lysozyme gene and the effect of T4- and hen egg-white lysozyme on soil and phytopathogenic bacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 22, p. 280-286, 1999.

DONEGAN, K. K.; PALM, C. J.; FIELAND, V. J.; PORTEUS, L. A.; GANIO, L. M.; SCHALLER, D. L.; BUCAO L. Q.; SEIDLER, R. J. Changes in levels, species and DNA fingerprints of soil microorganisms associated with cotton expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* endotoxin. **Applied Soil Ecology**, v. 2, p. 111-124, 1995.

DUNFIELD, K. E.; GERMIDA, J. J. Impact of genetically modified crops on soil- and plant-associated microbial communities. **Journal of Environmental Quality**, v. 38, p. 806-815, 2004.

- DUNFIELD, K. E.; GERMIDA, J. J. Seasonal changes in the rhizosphere microbial communities associated with field-grown genetically modified canola (*Brassica napus*). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 7310-7318, 2003.
- DUNFIELD, K. E.; GERMIDA, J. J. Diversity of bacterial communities in the rhizosphere and root interior of field-grown genetically modified *Brassica napus*. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 82, p. 1-9, 2001.
- DÜRING, K.; PORSCHE, P.; FLADUNG, M.; LORZ, H. Transgenic potato plants resistant to the phytopathogenic bacterium *Erwinia carotovora*. **Plant Journal**, v. 3, p. 587-598, 1993.
- FERRÉ, J.; ESCRICHE, B.; BEL, Y.; VAN RIE, J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal protein. **FEMS Microbiology Letters**, v. 132, p.1-7, 1995.
- FLORES, S.; SAXENA, D.; STOTZKY, G. Transgenic *Bt* plants decompose less in soil than non-*Bt* plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, p. 1073-1082, 2005.
- GARLAND J. L.; MILLS, A. L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-sole-carbon-source-utilization. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 2351-2359, 1991.
- GEBHARD, F.; SMALLA, K. Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 28, p. 261-271, 1999.
- GYAMFI, S.; PFEIFER, U.; STIERSCHNEIDER, M.; SESSITSCH, A. Effects of transgenic glufosinate-tolerant oilseed rape (*Brassica napus*) and the associated herbicide application on eubacterial and *Pseudomonas* communities in the rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 41, p. 181-190, 2002.
- HEINEMANN, J. A.; TRAAVIK, T. Problems in monitoring horizontal gene transfer in field trials of transgenic plants. **Nature Biotechnology**, v. 22, p. 1105-1109, 2004.
- HEUER, H.; KROPPESTEDT, R. M.; LOTTMANN, J.; BERG, G.; SMALLA, K. Effects of T4 lysozyme release from transgenic potato roots on bacterial rhizosphere communities are negligible relative to natural factors. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 1325-1335, 2002.
- HOOPER, A. B. Biochemistry of the nitrifying litho-autotrophic bacteria. In: SCHLEGEI, H. G.; BOWIEN, B. (Ed.). **Autotrophic bacteria**. Berlin: Springer, 1990. p. 239-265.
- JACOB, G. S.; GARBOW, J. R.; HALLAS, L. E.; KIMACK, N. M.;

KINSHORE, G. M.; SCHAEFER, J. Metabolism of glyphosate in *Pseudomonas* strain LBr. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, p. 2953-2958, 1988.

LOTTMANN, J.; BERG, G. Phenotypic and genotypic characterisation of antagonistic bacteria associated with roots of transgenic and non-transgenic potato plants. **Microbiology Research**, v. 156, p. 75-82, 2001.

LOTTMANN, J.; HEUER, H.; DE VRIES, J.; MAHN, A.; DURING, K.; WACKERNAGEL, W.; SMALLA, K.; BERG, G. Establishment of introduced antagonistic bacteria in the rhizosphere of transgenic potatoes and their effect on the bacterial community. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 33, p. 41-49, 2000.

LOTTMANN, J.; HEUER, H.; SMALLA, K.; BERG, G. Influence of transgenic T4-lysozyme-producing potato plants on potentially beneficial plant-associated bacteria. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 29, p. 365-377, 1999.

LYNCH, J. M.; BENEDETTI, A.; INSAM, H.; NUTI, M. P.; SMALLA, K.; TORSVIK, V.; NANNIPIERE, P. Microbial diversity in soil: ecological theories, the contribution of molecular techniques and impact of transgenic plants and transgenic microorganisms. **Biology and Fertility of Soils**, v. 40, p. 363-385, 2004.

MENDELSON, M.; KOUGH, J.; VAITUZIS, Z.; MATTHEWS, K. Are Bt crops safe? **Nature Biotechnology**, v. 21, p. 1003-1009, 2003.

MOTAVALLI, P. P.; KREMER, R. J.; FANG, M.; MEANS, N. E. Impact of genetically modified crops and their management on soil microbially mediated plant nutrient transformations. **Journal of Environmental Quality**, v. 38, p. 816-824, 2004.

NIELSEN, K. M.; VAN ELSAS, J. D.; SMALLA, K. Transformation of *Acinetobacter* sp. Strain BD413 (pFG4nptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 1237-1242, 2000.

OGER, P.; MANSOURI, H.; DESSAUX, Y. Effect of crop rotation and soil cover on alteration of the soil microflora generated by the culture of transgenic plants producing opines. **Molecular Ecology**, v. 9, p. 881-890, 2000.

PIPKE, R. N.; AMERHEIN, N.; JACOB, G. S.; SCHAFFER, J.; MARVEL, J. T. Metabolism of glyphosate in an *Arthrobacter* sp. GLP-1. **European Journal of Biochemistry**, v. 165, p. 267-273, 1987.

RUMJANEK, N. G.; FONSECA, M. C. Possíveis efeitos do cultivo de algodoeiro *Bt* sobre a comunidade de microrganismos do solo. In: PIRES,

C. S. S.; FONTES, E. M. G.; SUJII, E. R. (Ed.). **Impacto ecológico de plantas geneticamente modificadas:** o algodão resistente a insetos como estudo de caso. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. p. 117-133.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, C. M.; XAVIER, G. R. Microbiota do solo como indicadora de impacto causado pelo cultivo de plantas GMs. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 30., 2005, Recife. **Solos, sustentabilidade e qualidade ambiental.** Recife: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. 1 CD-ROM.

SAXENA, D.; FLORES, S.; STOTZKY, G. Bt toxin is released in root exudates from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, p.133-137, 2002.

SAXENA, D.; FLORES, S.; STOTZKY, G. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. **Nature**, v. 402, p. 480, 1999.

SAXENA, D.; STOTZKY, G. Bacillus thuringiensis (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 1225-1230, 2001a.

SAXENA, D.; STOTZKY, G. Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn. **American Journal of Botany**, v. 88, p. 1704-1706, 2001b.

TORSVIK, V.; OVREAS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p. 240-245, 2002.

TURRINI, A.; SBRANA, C.; PITTO, L.; CASTIGLIONE, M. R.; GIORGETTI, L.; BRIGANTI, R.; BRACCI, T.; EVANGELISTA, M.; NUTI, M. P.; GIOVANNETTINI M. The antifungal Dm-AMP1 protein from *Dahlia merckii* expressed in *Solanum melongena* is released in root exudates and differentially affects pathogenic fungi and mycorrhizal symbiosis. **New Phytologist**, v. 163, p. 393-403, 2004.

URWIN, P. E.; TROTH, K. M.; ZUBKO, E. I.; ATKINSON, H. J. Effective transgenic resistance to *Globodera pallida* in potato field trials. **Molecular Breeding**, v. 8, p. 95-101, 2001.

VIERHEILIG, H.; ALT, M.; NEHAUS, J.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A. Colonization of transgenic *Nicotiana sylvestris* plants, expressing different forms of *Nicotiana tabacum* chitinase by the root pathogen *Rhizoctonia solani* and by the mycorrhizal symbiont *Glomus mosseae*. **Molecular Plant Microbe Interaction**, v. 6, p. 261-264, 1993.



CAPÍTULO 9

***A IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO DA
FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO EM
SOJA TRANSGÊNICA COM RESISTÊNCIA
AO GLIFOSATO***

IÊDA DE CARVALHO MENDES
FÁBIO BUENO DOS REIS JUNIOR
MARIANGELA HUNGRIA

A IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO EM SOJA TRANSGÊNICA COM RESISTÊNCIA AO GLIFOSATO

Fixação biológica do nitrogênio: o processo e sua importância

O nitrogênio está incluído entre os nutrientes exigidos em maior quantidade pelas plantas, e sua deficiência é um dos fatores que mais limitam a agricultura, especialmente, em solos de baixa fertilidade, como os da região do Cerrado. Esse nutriente, apesar de presente no solo, na forma orgânica ou mineralizada, tem seu suprimento limitado, podendo ser esgotado rapidamente por alguns cultivos. Além disso, as condições de temperatura e de umidade predominantes nas regiões tropicais aceleram o processo de decomposição da matéria orgânica e de perdas de N, resultando em solos com teores baixos desse nutriente. Os fertilizantes nitrogenados representam a forma de N assimilada com maior rapidez

pelas plantas; entretanto, seu custo é bastante elevado.

O processo industrial que transforma o nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (NH_3) requer altas temperaturas (300 °C a 600 °C) e altas pressões (200 atm a 800 atm). Desse modo, o gasto de fontes energéticas não-renováveis é estimado em seis barris de petróleo por tonelada de NH_3 sintetizada. Outra desvantagem no uso dos fertilizantes nitrogenados é a baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, raramente ultrapassando 50 %. Isso significa que, se forem adicionados ao solo 100 kg de adubo nitrogenado, 50 kg serão perdidos pelo processo de lixiviação (lavagem no perfil do solo por percolação ou escorrimento superficial) e transformação em formas gasosas, tanto pela desnitrificação (redução, pela ação dos microrganismos, para

formas gasosas, N_2 e óxido nitroso, N_2O) como pela volatilização (perdas gasosas na forma de NH_3) (VARGAS; HUNGRIA, 1997; HUNGRIA et al., 2001).

O uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados pode causar poluição ambiental, pois a lixiviação do N e o escoamento desse nutriente pela superfície do solo resultam no acúmulo de formas nitrogenadas nas águas dos rios, lagos e lençóis subterrâneos, podendo atingir níveis tóxicos não só para os peixes como também para o homem. A emissão de óxido nitroso para a atmosfera, fenômeno resultante do processo de desnitrificação, pode contribuir, também, para a redução da camada de ozônio que protege contra os danos causados pela radiação ultravioleta do sol. Dessa forma, um melhor aproveitamento do processo de fixação biológica do N_2 constitui uma das melhores opções para se reduzir tanto o custo de produção para o agricultor, quanto a poluição ambiental provocada pelos fertilizantes nitrogenados.

Embora o N_2 constitua 78 % dos gases atmosféricos que também se difundem para o espaço poroso do solo, nenhum animal ou planta consegue utilizá-lo como nutriente, em virtude da tripla ligação existente entre os dois átomos de N, considerada uma das mais fortes de que se tem conhecimento na natureza. A fixação biológica do N_2 é, seguramente, após a fotossíntese, o mais importante processo biológico do planeta e baseia-se no fato de alguns microrganismos específicos, conhecidos como microrganismos fixadores de N_2 ou diazotróficos, serem capazes de transformar o N_2 em NH_3 , que será, posteriormente, utilizado para a nutrição das plantas. Essa reação é catalisada pela enzima nitrogenase, encontrada em todos os microrganismos fixadores de N_2 (VARGAS; HUNGRIA, 1997; HUNGRIA et al., 2001).

Se a associação entre esses microrganismos e as plantas for eficiente, o N_2 fixado pode suprir todas as necessidades da planta hospedeira, dispensando o uso de fertilizantes nitrogenados e oferecendo, assim, vantagens

econômicas e ecológicas. O exemplo mais conhecido é o da simbiose de bactérias da ordem Rhizobiales, denominadas, em geral, de rizóbios, com plantas da família Leguminosae. Nas leguminosas, a reação da fixação biológica do N_2 ocorre no interior dos nódulos, onde a nitrogenase é protegida contra o excesso de oxigênio (Fig.1). Essa proteção é efetuada por uma hemoproteína

transportadora de oxigênio, denominada leghemoglobina, que, quando ativa, confere aos nódulos uma coloração interna rósea. Depois da conversão do N_2 atmosférico em NH_3 , essa hemoproteína é incorporada em compostos de carbono, transformada em diversos compostos nitrogenados e transportada dos nódulos para as demais partes da planta.



Fig. 1. Nodulação nas raízes de soja, resultante da inoculação com células de *Bradyrhizobium*.

Inoculação da soja na região do cerrado brasileiro: uma história de sucesso

No Brasil, deve-se dar destaque à simbiose da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com bactérias diazotróficas pertencentes às espécies *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii*, coletivamente denominadas de bradirrizóbios. Juntamente com os programas de melhoramento e lançamento de cultivares, a seleção de estirpes de bradirrizóbios para a soja adaptadas às condições brasileiras, especialmente às condições do Cerrado, foi, sem dúvida, um dos fatores que mais contribuíram para a expansão dessa cultura no Brasil. Outro ponto que merece destaque é que, em vários países do mundo, a inoculação da soja em áreas que já foram inoculadas anteriormente, em geral, não apresenta resultados satisfatórios em termos de incremento no rendimento de grãos. Esse, porém, não é o caso do Brasil, onde a existência de um programa bem-sucedido de seleção de estirpes de bradirrizóbio para a soja permitiu o lançamento

de novas estirpes, capazes de aumentar o rendimento dessa cultura mesmo em áreas com populações estabelecidas dessa bactéria (VARGAS et al., 1994; HUNGRIA et al., 2006b).

Atualmente, estima-se que, nos 22 milhões de hectares cultivados com soja, no Brasil, o uso da inoculação com bactérias fixadoras de N₂ promove economia anual estimada em, aproximadamente, 5 bilhões de dólares, em virtude da não utilização de fertilizantes nitrogenados, isso sem mencionar os benefícios ao meio ambiente. Entretanto, quando da introdução dessa cultura na região do Cerrado, na década de 1970, vários problemas contribuíram para que o processo de inoculação da soja não fosse bem-sucedido, ao contrário do que ocorria na Região Sul do País. Os solos sob Cerrado não apresentam populações de rizóbios nativos capazes de nodular a soja (VARGAS; SUHET, 1980a,b) e, em virtude da utilização de inoculantes com baixo número de células viáveis e com bactérias não adaptadas à região, era comum o uso de fertilizantes nitrogenados na cultura.

Entre os principais fatores que contribuíram para o insucesso da inoculação da soja na década de 1970, destaca-se o uso de estirpes que apresentavam problemas de especificidade hospedeira com a cultivar de soja mais plantada naquela época, a IAC-2 (PERES; VIDOR, 1980; VARGAS; SUHET, 1980a). Com base em uma série de trabalhos realizados pela Embrapa Cerrados e pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em 1980, foram selecionadas e lançadas as estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* 29W (=SEMIA 5019) e a SEMIA 587 (PERES, 1979; PERES; VIDOR, 1980). Além da alta eficiência no processo de fixação do N₂ e da elevada capacidade competitiva, a 29W e a SEMIA 587 apresentavam baixa especificidade hospedeira, sendo capazes de formar nódulos com a maioria das cultivares de soja recomendadas para o Cerrado. O lançamento dessas estirpes para o uso em inoculantes comerciais permitiu o cultivo da soja na região do Cerrado, sem a necessidade do uso de fertilizantes nitrogenados.

Em virtude do lançamento contínuo de novas variedades de soja com

alta capacidade produtiva, um dos principais objetivos dos programas de pesquisa em fixação biológica do N₂ nessa região é o da seleção de estirpes eficientes, capazes de aumentar a produtividade da cultura pela fixação de quantidades mais elevadas de N₂. Como resultado desses estudos, em 1992, foram lançadas duas novas estirpes de *B. japonicum*, denominadas CPAC 7 (=SEMIA 5080) e CPAC 15 (=SEMIA 5079) (PERES et al., 1993). Desde então, juntamente com as estirpes 29W e SEMIA 587, essas estirpes são recomendadas para a fabricação de inoculantes comerciais para a cultura da soja sendo que, cerca de 60 % da área cultivada atualmente com soja no País é inoculada a cada ano, atingindo 80 % a 90 % na Região Central do Brasil.

Conforme já comentado, solos de Cerrado que nunca foram cultivados com soja não têm populações nativas de rizóbios capazes de nodular a soja (VARGAS; SUHET, 1980a, b), requerendo, obrigatoriamente, a inoculação. Todavia, depois de vários anos de cultivo e de inoculação das sementes, instalam-se, no solo,

populações de bradirrizóbios. Em geral, nas áreas com populações estabelecidas de bradirrizóbios, a resposta à reinoculação (termo usado para descrever a inoculação de áreas que já foram inoculadas anteriormente) não é tão acentuada como nas áreas de primeiro cultivo. O principal fator responsável por isso é a competição pelos sítios de infecção nodular nas raízes entre as estirpes do solo e aquelas utilizadas no inoculante. Esse é um fenômeno mundial e constitui o grande desafio para a pesquisa em rizobiologia (DOWLING; BROUGHTON, 1986; BROCKWELL; BOTTOMLEY, 1995). No Brasil, porém, tanto na região do Cerrado, quanto na Região Sul, vários trabalhos têm evidenciado aumentos na produtividade da soja com a reinoculação. Embora esses ganhos sejam modestos (o que muitas vezes dificulta a obtenção de diferenças estatisticamente significativas), eles têm sido observados consistentemente. Em experimentos conduzidos pela Embrapa Cerrados, durante seis safras, para avaliar a reinoculação da soja, ocorreram aumentos de

produtividade de 227 kg grãos ha⁻¹ a 636 kg grãos ha⁻¹ em função da reinoculação em três experimentos. Em dois dos experimentos, com médias de produtividade de 4.162 kg ha⁻¹, não houve respostas significativas estatisticamente à reinoculação e nem à adubação com 200 kg N ha⁻¹ (parcelados em duas aplicações de 100 kg N ha⁻¹ na semeadura e no pré-florescimento) e, em um experimento, houve resposta significativa à adubação parcelada com 200 kg N ha⁻¹, indicando a existência de fatores limitantes à fixação biológica do N₂ (MENDES et al., 2002). Em 20 experimentos conduzidos durante três safras em Londrina e Ponta Grossa, no Paraná (HUNGRIA et al., 2006b), os incrementos médios no rendimento de grãos pela reinoculação foram de 4,7 %.

Ainda em relação à reinoculação, em uma análise inicial conjunta dos resultados obtidos em 13 experimentos conduzidos na maioria dos estados produtores de soja, com diversas cultivares e sob diferentes sistemas de cultivo, foram constatados incrementos

médios no rendimento de 7,8 % na Região Central e de 3,8 % na Região Sul. Em média, o ganho no rendimento de grãos foi de 4,5 %, diferindo estatisticamente em relação ao tratamento não inoculado (HUNGRIA et al., 2001). Considerando esse incremento de 4,5 %, o custo atual da inoculação em torno de R\$ 7,80 (500 g de inoculante turfoso), o preço médio de um saco de soja (60 kg) de R\$ 22,00 e a produtividade média da soja na safra 2005/2006 de 2.627 kg ha⁻¹, estima-se um lucro líquido com a reinoculação de R\$ 35,50 ha⁻¹. Posteriormente, com a inclusão de novos dados, totalizando 29 experimentos, foi constatado incremento ainda maior no rendimento médio de grãos, de 8 %, pela reinoculação da soja (HUNGRIA et al., 2006a), o que pode ser explicado tanto pela maior demanda das novas cultivares quanto pelos baixos teores de N nos solos sob cultivo contínuo.

Desde o lançamento das estirpes 29W e SEMIA 587, em 1979, a prática de adubação nitrogenada da cultura da soja deixou de ser recomendada. Inicialmente,

pesquisas realizadas em 1982 na Embrapa Cerrados (VARGAS et al., 1982) demonstraram a inutilidade da prática da adubação nitrogenada na semeadura da soja, pois mesmo em solos com grande quantidade de resíduos vegetais (26 t ha⁻¹) não foi observada resposta à aplicação de fertilizantes nitrogenados, em níveis de até 30 kg N ha⁻¹. Entretanto, com a expansão do plantio direto, principalmente, na região do Cerrado, novamente surgiram dúvidas, por parte de alguns agricultores, sobre a eficiência do processo de inoculação e sobre a necessidade ou não da aplicação de doses de “arranque” de nitrogênio na semeadura, visando superar possíveis problemas relacionados à imobilização do N e à competição inicial com ervas daninhas. Novos experimentos foram conduzidos no Cerrado (MENDES et al., 2003) e, mais uma vez, foi comprovado que, independentemente do sistema de manejo (plantio direto ou convencional), a adição de pequenas doses de N na semeadura não promoveu nenhum incremento no rendimento de grãos

da soja, o mesmo ocorrendo na Região Sul (HUNGRIA et al., 2006b).

Todos esses resultados indicam que a inoculação da soja com bactérias diazotróficas é, de fato, uma tecnologia importante gerada pela pesquisa agropecuária brasileira (Fig. 2). Assim, no atual contexto mundial, em que os preços do petróleo apresentam trajetória ascendente, e a

grande dependência do modelo energético, baseado no uso de combustíveis fósseis não-renováveis, vem dando sinais visíveis de esgotamento. Mais do que nunca, o uso de tecnologias como a fixação biológica de N_2 – que minimizam o uso de fertilizantes nitrogenados, substituindo-os por um processo biológico – deve ser incentivado.

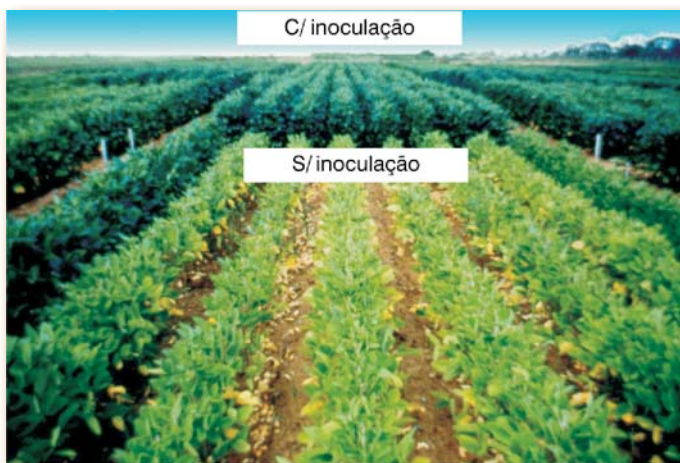


Fig. 2. Efeito da inoculação de plantas de soja com *Bradyrhizobium*.

A fixação biológica do nitrogênio na soja transgênica

O cultivo comercial da soja tolerante ao herbicida glifosato (também denominada *Round up Ready* ou soja RR) teve início em 1996 nos Estados Unidos, abrindo novas oportunidades para o controle de plantas invasoras e possibilitando a substituição e(ou) a redução no uso de herbicidas de pós-emergência nessa cultura. Em 2003, o cultivo da soja RR ocupou 81 % da área cultivada com essa cultura nos EUA e, na safra 2004/2005, cerca de 9,4 milhões de hectares foram semeados com soja transgênica resistente ao herbicida glifosato no Brasil (JAMES, 2005).

O glifosato é um herbicida pós-emergente, pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, classificado como não-seletivo e de ação sistêmica. Controla uma ampla variedade de plantas invasoras e apresenta rápida inativação. Atua como um potente inibidor da atividade da 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), que é catalisadora

de uma das reações de síntese dos aminoácidos aromáticos essenciais fenilalanina, tirosina e triptofano e está presente em plantas e microrganismos; porém, ausente em animais (explicando sua baixa toxicidade em mamíferos). O glifosato influencia, também, outros processos, como a inibição da síntese de clorofila, estimula a produção de etileno, reduz a síntese de proteínas e eleva a concentração do ácido indolacético. Em plantas não-tolerantes, o glifosato inibe a síntese dos aminoácidos pelo bloqueio da enzima EPSPS, que cataliza a condensação do chiquimato-3-fosfato (ou S3P, shikimate-3-phosphate) e do PEP (fosfoenolpiruvato), dando condições à produção de EPSP (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato) e de fosfato orgânico, que são as substâncias responsáveis pela síntese de aminoácidos aromáticos (STEINRUCKEN; AMRHEIN, 1980). Portanto, a inibição da enzima EPSPS resulta no acúmulo de ácido chiquímico e outros compostos intermediários. Os efeitos tóxicos do glifosato nas plantas sensíveis estão relacionados à incapacidade de essas plantas sintetizarem os

aminoácidos aromáticos, ao dreno de energia em razão do consumo de ATP e PEP e aos efeitos tóxicos relacionados ao acúmulo de compostos intermediários da via do ácido chiquímico (FISHER et al., 1986).

A base de resistência das plantas de soja transgênica ao glifosato é a inserção de um gene EPSPS, oriundo da bactéria *Agrobacterium* estirpe CP4, que é insensível a esse herbicida e que permite a expressão funcional da via do ácido chiquímico na sua presença (PADGETTE et al., 1995).

O uso de herbicidas pode afetar a fixação biológica do N₂ diretamente, por intermédio de efeitos sobre a bactéria, ou indiretamente, por meio de efeitos na leguminosa hospedeira. Desse modo, é muito importante que os avanços da biotecnologia, que possibilitaram a geração de cultivares de soja transgênicas, sejam acompanhados de estudos rigorosos de segurança ambiental (biossegurança), visando garantir não só a segurança alimentar e a ocorrência de impactos mínimos ao meio ambiente, mas também assegurar

que os ganhos obtidos com a pesquisa, a exemplo do processo de fixação biológica do N₂, não sejam comprometidos. Em 2003, a Embrapa implementou um projeto visando avaliar a fixação biológica do N₂ em cultivares transgênicas de soja. O projeto ainda está em andamento e a seguir serão apresentados os resultados de vários estudos, a maioria realizada nos Estados Unidos, onde foram avaliados os efeitos do glifosato e da transgenia na fixação biológica do N₂ na soja.

Quanto aos efeitos diretos, sabe-se que uma das espécies de microsimbiontes da soja, *Bradyrizobium japonicum*, é sensível à aplicação do glifosato, resultando em acúmulo dos ácidos chiquímico e protocatecuico nas células, com conseqüente inibição do crescimento e resultando na morte da bactéria em concentrações elevadas do herbicida (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004b). Em estudos realizados em meio de cultura (in vitro), Jaworski (1972) verificou que o crescimento de *B. japonicum* era inibido na presença de baixas concentrações de glifosato (da ordem de 0,01mM

e 1,0 mM). Moorman et al. (1992) verificaram, também, em estudos in vitro, que a inibição do crescimento por glifosato era diferenciada entre três estirpes de *B. japonicum* (USDA 110, USDA 123 e USDA 138). Na concentração de 0,5 mM, o crescimento das estirpes USDA 123 e USDA 138 foi moderadamente inibido pelo glifosato (12 % e 19 % respectivamente), enquanto a estirpe USDA 110 teve seu crescimento inibido em 47 %. A concentração de 5 mM de glifosato resultou na morte das estirpes.

Jacques et al. (2003) avaliaram, em um estudo conduzido no Brasil, o efeito do princípio ativo e de sete formulações comerciais de glifosato no crescimento das estirpes de *B. elkanii* SEMIA 587 e 29W e da estirpe de *B. japonicum* CPAC 15. O crescimento das três estirpes in vitro foi reduzido tanto na presença do princípio ativo quanto na das formulações de glifosato, sendo que a magnitude dessa redução variou conforme a estirpe e a formulação. Na verdade, todas as formulações comerciais aumentaram a toxicidade do herbicida. Foi sugerido que os efeitos inibitórios das formulações

comerciais de glifosato no crescimento das estirpes foram potencializados em razão da presença de diferentes substâncias químicas nessas formulações, tais como solventes, surfactantes e agentes molhantes que podem modificar o efeito do ingrediente ativo sobre os microrganismos.

Contudo, estudos in vitro podem apresentar pouca relação com a resposta daqueles conduzidos no campo. Vários microrganismos do solo, inclusive membros da ordem Rhizobiales, são capazes de metabolizar o glifosato, por exemplo, *Rhizobium meliloti* (agora reclassificado como *Sinorhizobium meliloti*), *R. trifolii* (agora *R. leguminosarum* *bv. trifolii*), *R. leguminosarum* (estirpe 300 de *R. leguminosarum* *bv. viciae*), *R. galega* (agora *R. galegae*), *Agrobacterium rhizogenes* e *A. tumefaciens* (LIU et al., 1991). Além disso, herbicidas à base de glifosato são, em geral, considerados de vida relativamente curta no solo, onde dificilmente apresentarão a mesma toxidez observada em estudos de laboratório. Sendo assim, experimentos de campo são necessários para validar os

resultados obtidos em laboratório, razão pela qual o projeto da Embrapa está avaliando a toxicidade dos herbicidas nos principais ecossistemas brasileiros nos quais a soja é produzida.

Ao atingir as folhas e ser absorvido pela soja transgênica, o glifosato praticamente não sofre nenhuma ação de transformação, sendo rapidamente translocado para as raízes, podendo também ser acumulado nos nódulos (REDDY; ZABLOTOWICZ, 2003), o que pode facilitar o contato do herbicida com as células das bactérias fixadoras de N_2 .

Os estudos que verificam os efeitos do glifosato na nodulação da soja RR podem ser divididos em dois grupos: aqueles conduzidos em condições controladas de casa de vegetação e aqueles conduzidos no campo. Reddy et al. (2000) apresentaram resultados de três estudos conduzidos em condições de casa de vegetação. Em um desses estudos, a aplicação, aos 14 dias após o plantio, de uma dose de glifosato equivalente a $0,84 \text{ kg ia ha}^{-1}$ reduziu, significativamente, o número

(28 %) e a massa (47 %) de nódulos e o conteúdo de leghemoglobina (13 %). No entanto, curiosamente, a aplicação de $1,68 \text{ kg ia ha}^{-1}$ não provocou efeitos negativos sobre a nodulação. No segundo estudo, semelhante ao primeiro, a aplicação de glifosato logo após o plantio (14 dias) não apresentou efeitos sobre a nodulação, independentemente da dose utilizada. No terceiro estudo, a aplicação tardia de uma dose de $1,68 \text{ kg ia ha}^{-1}$, 3 semanas após o plantio, promoveu redução no número (30 %) e na massa (39 %) de nódulos, no conteúdo de leghemoglobina e no conteúdo total de N na parte aérea (14 %).

King et al. (2001) conduziram estudos em casa de vegetação e em câmara de crescimento. Em casa de vegetação, a aplicação de glifosato ($1,26 \text{ kg ia ha}^{-1}$), aos 5 e aos 12 dias após a emergência (DAE) das plantas, reduziu, significativamente, a massa de nódulos (34 %) das plantas de soja transgênica TV5866RR coletadas aos 19 DAE. Contudo, quando o experimento foi repetido, a massa de nódulos não foi afetada. O conteúdo de N total das raízes e da parte aérea

foi reduzido (35 %) em ambos os estudos. Quando as plantas foram coletadas aos 40 DAE, os efeitos das aplicações de glifosato não foram mais observados, indicando que as plantas conseguiram se recuperar do efeito inicial. Nos quatro estudos conduzidos em câmaras de crescimento, foram avaliados os efeitos de múltiplas aplicações foliares de glifosato sobre a atividade da nitrogenase, a enzima responsável pela fixação do N_2 , avaliada pelo método de atividade da redução do acetileno (ARA). Foram feitas três aplicações de glifosato, aos 5, 12 e 19 DAE, e a ARA foi determinada aos 14, 21 e 28 DAE. Reduções significativas na ARA (12 % a 20 %) foram observadas em três dos quatro estudos aos 21 DAE, mas somente em um dos estudos nas avaliações aos 14 e aos 28 DAE. Os efeitos da deficiência hídrica na ARA em plantas em que o glifosato foi aplicado também foram avaliados. Plantas com aplicação de glifosato, quando comparadas ao controle sem aplicação, mostraram maior sensibilidade da ARA ao estresse hídrico.

Em condições de campo, King et al. (2001) também avaliaram os efeitos da aplicação de herbicidas sobre o acúmulo de biomassa e a produção de grãos em duas variedades de soja transgênica cultivadas em duas áreas distintas. Embora tolerantes ao glifosato, as variedades utilizadas no experimento, A5901RR e DK5961RR, apresentavam níveis diferenciados de sensibilidade ao herbicida, sendo a A5901RR menos sensível e a DK5961RR mais sensível à aplicação do herbicida. Na área que recebeu maiores quantidades de chuva e irrigação, nenhum efeito da aplicação de glifosato foi observado. Na área onde ocorreu estresse hídrico, porém, reduções significativas na biomassa da parte aérea (92 DAE) da cultivar AR5901RR foram observadas nos três tratamentos com glifosato, bem como no tratamento com os herbicidas convencionais (acifluorfen e benzeton). Redução significativa na produtividade (24,6 %) foi observada apenas nos tratamentos que receberam glifosato aos 7 e 21 DAE. Nessa mesma área, a variedade DK5961RR também sofreu redução significativa no

rendimento de grãos (23,6 %) quando o glifosato foi aplicado aos 7 e aos 49 DAE; contudo, não foram observados efeitos sobre a biomassa da parte aérea.

Os dados obtidos por esses autores em condições de casa de vegetação, câmara de crescimento e no campo evidenciaram que aplicações precoces de glifosato retardam a fixação de N_2 e aumentam a sensibilidade do processo a estresses hídricos. Entretanto, decréscimos na produção de biomassa de raízes e da parte aérea da soja pela aplicação do glifosato também foram observados nas plantas suplementadas com fertilizante nitrogenado. Os autores levantaram a hipótese de que, nos estádios iniciais de formação dos nódulos, a membrana do nódulo (simbiossomo) pode não restringir seletivamente a penetração do glifosato no seu interior, permitindo que ele interfira nas divisões bacterianas, conforme verificado nos estudos *in vitro*. Já nas condições nas quais não ocorre estresse hídrico, parece que o atraso na fixação do N_2 não resulta em impactos a longo prazo

na biomassa da parte aérea e no acúmulo de N na soja.

Reddy e Zablotowicz (2003) avaliaram, por 2 anos, os efeitos de uma (no estádio V2 das plantas) ou duas (V2 e V4) aplicações de quatro diferentes formulações de sais de glifosato sobre a nodulação de plantas de soja transgênicas resistentes ao glifosato, utilizando como controle um tratamento sem herbicida e sem capina. Os autores observaram que as diferentes formulações de glifosato não afetaram o teor de clorofila, biomassa de raízes e da parte aérea, bem como o número de nódulos. Entretanto, a massa de nódulos foi reduzida significativamente (21 % a 28 %) em todos os tratamentos onde houve aplicação de glifosato.

Além disso, nos tratamentos com duas aplicações, o conteúdo de leghemoglobina nos nódulos foi igualmente reduzido (8 % a 10 %). Os autores observaram que a redução na massa dos nódulos e nos conteúdos de leghemoglobina sem a redução no número de nódulos sugere que o glifosato poderia estar inibindo o funcionamento dos nódulos, mas

não a sua formação. No entanto, a redução no funcionamento dos nódulos em virtude da aplicação do glifosato não refletiu no rendimento de grãos, sendo que as variedades de soja avaliadas tiveram potencial para superar os curtos períodos de estresse que ocorreram depois da aplicação do herbicida.

Em um trabalho mais recente, Zablotowicz e Reddy (2004a) estudaram, durante 2 anos (2002 e 2003), os efeitos do glifosato na fixação do N_2 , na assimilação de N e na produtividade da soja transgênica. Cinco doses de glifosato ($0,84 \text{ kg ia ha}^{-1}$; $1,68 \text{ kg ia ha}^{-1}$; $2,52 \text{ kg ia ha}^{-1}$; $0,84 \text{ kg ia ha}^{-1} + 0,84 \text{ kg ia ha}^{-1}$; $2,52 \text{ kg ia ha}^{-1} + 2,52 \text{ kg ia ha}^{-1}$), aplicadas quatro e seis semanas após o plantio, foram comparadas com um controle livre de ervas daninhas. As plantas de soja foram coletadas na quarta e na oitava semana após o plantio, quando as raízes noduladas foram utilizadas para avaliação da ARA e respiração e, na parte aérea, foi determinado o teor de N. Nenhum efeito consistente da aplicação de glifosato foi observado nas análises de ARA ou na respiração. No entanto, nas análises feitas em 2002, nas

quais os autores relataram a existência de estresse hídrico, todos os tratamentos com glifosato tiveram o conteúdo de N foliar reduzido entre 26 % e 42 %. Em 2003, três dos tratamentos com glifosato também diminuíram o conteúdo de N nas folhas (9 % a 14 %) e, como em 2002, as maiores reduções ocorreram quando foram aplicadas as maiores doses de glifosato. A produtividade de soja, comparada com o controle não tratado com glifosato, foi reduzida em 11 % pela aplicação de duas doses de $2,52 \text{ kg ia ha}^{-1}$ no ano de 2002; mas, em 2003, a produtividade não foi afetada. O N total dos grãos de soja tratada com $2,52 \text{ kg ia ha}^{-1}$ também foi reduzido em 32 % e 17 % nos anos de 2002 e 2003 respectivamente. Os autores concluíram que a fixação de N_2 ou a assimilação do N pela soja transgênica foi reduzida, principalmente sob as doses mais elevadas de glifosato. Essas reduções foram ainda mais elevadas sob estresse hídrico.

Apesar de os trabalhos mostrarem indícios de que as aplicações de glifosato podem interferir na fixação do N_2 em plantas de soja transgênica, a verdadeira magnitude dessa interferência

ainda não é conhecida. Os próprios autores desses trabalhos afirmam que tais efeitos são inconsistentes em estudos de campo (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004b).

Dada a importância da soja no agronegócio brasileiro e da fixação biológica N_2 para a cultura, estudos criteriosos e a longo prazo devem ser conduzidos no País, incluindo diferentes situações edafoclimáticas, genótipos do macro e microsimbiontes e tomando-se cuidado na escolha dos controles e dos delineamentos experimentais. A quantificação da fixação do N_2 por técnicas como a análise de N sob a forma de ureídeos ou abundância natural de ^{15}N em estudos de campo também pode trazer informações para verificar, com maior precisão, a ocorrência de possíveis efeitos de aplicações de glifosato sobre a fixação do N_2 em plantas de soja geneticamente modificadas.

Conforme mencionado anteriormente, a maioria dos resultados dos experimentos apresentados neste capítulo é oriunda de estudos conduzidos nos Estados Unidos e, portanto, não devem ser extrapolados para

as condições brasileiras. O projeto que está sendo conduzido dentro da Rede de Biossegurança da Embrapa verificará, por meio de um estudo detalhado, possíveis efeitos da transgenia e do manejo com a soja transgênica, na fixação do N_2 , englobando as principais regiões produtoras de soja. A expectativa é de que, com os resultados obtidos no projeto, os pesquisadores tenham subsídios para garantir a segurança ambiental e o sucesso da fixação biológica de N_2 na cultura da soja no Brasil.

Referências

- BROCKWELL, J.; BOTTOMLEY, P. J. Recent advances in inoculant technology and prospects for the future. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, p. 683-697, 1995.
- DOWLING, D. N.; BROUGHTON, W. J. Competition for nodulation of legumes. **Annual Review of Microbiology**, v. 40, p. 131-157, 1986.
- FISCHER, R. S.; BERRY, C. G.; GAINES, C. G.; JENSON, R. A. Comparative action of glyphosate as a trigger of energy drain in eubacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 168, p. 1147-1154, 1986.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio**

na cultura da soja. Londrina:

Embrapa Soja, 2001. 48 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 35; Embrapa Cerrados. Circular Técnica, 13).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C.; GRAHAM, P. H. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* L. Merr.) in South America. In: SINGH, R. P.; SHANKAR, N.; JAIWAL, P. K. (Ed.). **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity.** Texas: Studium Press, 2006a. p. 43-93.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N₂ fixation and of N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Sciences**, v. 86, p. 927-939, 2006b.

JACQUES, R. J. S.; SANTOS, J. B.; PROCÓPIO, S. O.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, A. S.; SANTOS, E. A. Efeito das diferentes formulações do herbicida glifosato no crescimento do rizóbio da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Solo**: alicerces dos sistemas de produção. Botucatu: UNESP; Ribeirão Preto: SBCS, 2003. 1 CD-ROM.

JAMES, C. **Situação global da comercialização das lavouras**

geneticamente modificadas (GM)

comercializadas: 2005. Ithaca, NY: ISAAA, 2005. (ISAAA. Relatório, 34). Disponível em: <[http://www.isaaa.org/kc/CBTNews/press_release/briefs34/ESummary/Executive%20Summary%20\(Portuguese\).pdf](http://www.isaaa.org/kc/CBTNews/press_release/briefs34/ESummary/Executive%20Summary%20(Portuguese).pdf)>. Acesso em: 1 abr. 2006.

JAWORSKI, E. G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, p. 1195-1198, 1972.

KING, C. A.; PURCELL, L. C.; VORIES, E. D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 179-186, 2001.

KISHINEVSKY, B.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Science**, v. 28, p. 291-296, 1988.

LIU, C.-M.; McLEAN, P. A.; SOOKDEO, C. C.; CANNON, F. C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family Rhizobiaceae. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 1799-1804, 1991.

MALKONES, H. P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities: a review. **Journal of Plant Disease Protection**, v. 8, p. 781-789, 2000.

- MENDES, I. C.; HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; VARGAS, M. A. T. Reinoculação da soja em solos de cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2.; MERCOSOJA 2002, 2002, Foz do Iguaçu. **Perspectivas do agronegócio da soja**: resumos. Londrina: Embrapa Soja, 2002. p. 231. (Embrapa Soja. Documentos, 181).
- MENDES, I. C.; HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Soybean response to starter nitrogen and *Bradyrhizobium* inoculation in a Brazilian Cerrado oxisol under no-tillage and conventional tillage systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 81-87, 2003.
- MOORMAN, T. B.; BECERRIL, J. M.; LYDON, J.; DUKE, S. O. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 289-293, 1992.
- PADGETTE, S. R.; KOLACZ, K. H.; DELANNAY, X.; RE, D. B.; LA VALLEE, B. J.; TINIUS, C. N.; RHOADES, W. K.; OTERO, Y. I.; BARRY, G. F.; EICHOLTZ, D. A.; PESCHKE, V. M.; NIDA, D. L.; TAYLOR, N. B.; KISHORE, G. M. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. **Crop Science**, v. 35, p. 1451-1461, 1995.
- PERES, J. R. R.; VIDOR, C. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* e competitividade por sítios de infecção nodular em cultivares de soja (*Glicine max* (L.) MERRILL). **Agronomia Sulriograndense**, v. 16, p. 205-219, 1980.
- PERES, J. R. R. **Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* e competitividade por sítios de infecção nodular em cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 1979. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- PERES, J. R. R.; MENDES, I. C.; SUHET, A. R.; VARGAS, M. A. T. Eficiência e competitividade de estirpes de rizóbio para a soja em solos de Cerrados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 17, p. 357-363, 1993.
- REDDY, K. N.; HOAGLAND, R. E.; ZABLOTOWICZ, R. M. Effect of glyphosate on growth, chlorophyll, and nodulation in glyphosate-resistant and susceptible soybean (*Glycine max*) varieties. **Journal New Seeds**, v. 2, p. 37-52, 2000.
- REDDY, K. N.; ZABLOTOWICZ, R. M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. **Weed Science**, v. 51, p. 496-502, 2003.
- STEINRUCKEN, H. C.; AMRHEIN, N. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl shikimic acid-2-phosphate synthetase.

Biochemistry and Biophysics Research Communications, v. 94, p. 1207-1212, 1980.

VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do N₂ na cultura da soja. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Biologia dos solos de Cerrados**. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC, 1997. p. 297-360.

VARGAS, M. A. T.; PERES J. R. R.; SUHET, A. R. Adubação nitrogenada, inoculação e épocas de calagem para a soja em um solo sob Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, p. 1127-1132, 1982.

VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Efeito de tipos e níveis de inoculantes na soja cultivada em um solo de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 15, p. 343-347, 1980a.

VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Efeitos da inoculação e deficiência hídrica no desenvolvimento da soja

em um solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 4, p. 17-21, 1980b.

VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; MENDES, I. C.; PERES, J. R. R. **Fixação biológica do nitrogênio em solos de Cerrados**. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC, 1994. 83 p.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Effects of glyphosate on symbiotic nitrogen fixation, assimilation and soybean yield in glyphosate resistance soybean. In: INTERNATIONAL WEED CONTROL CONGRESS, 2., 2004, Copenhagen. **Abstracts...** Denmark: Department of Weed Control and Pesticide Ecology, 2004a.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 825-831, 2004b.



CAPÍTULO 10

O PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE SOJA TRANSGÊNICA PARA O CERRADO

PLÍNIO ITAMAR DE MELLO DE SOUZA
SÉRGIO ABUD DA SILVA
CLAUDETE TEIXEIRA MOREIRA
AUSTECLÍNIO LOPES DE FARIAS NETO
NELSON DOS SANTOS E SILVA
JOSÉ FRANCISCO DE FERRAZ TOLEDO
NEYLSON EUSTÁQUIO ARANTES

O PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE SOJA TRANSGÊNICA PARA O CERRADO

Início da pesquisa com organismos transgênicos

A primeira planta transgênica foi aprovada em escala comercial em 1994, nos Estados Unidos, após mais de 12 anos de pesquisas e estudos que comprovassem sua eficácia e segurança. O primeiro transgênico em soja que causou alto impacto na agricultura foi a soja transgênica RR (MONSANTO, 2005). Essa novidade chegou ao campo pela primeira vez nos Estados Unidos, na safra de 1996. No ano seguinte, os agricultores argentinos também aderiram a novidade (MONSANTO, 2005).

A soja transgênica RR (Roundup Ready) é assim conhecida por ter recebido um gene derivado da *Agrobacterium sp. CP4*, patenteado por uma empresa privada com o nome *CP4-EPSPS*. O gene expressa o elemento de resistência ao herbicida glifosato, princípio ativo do Roundup Ready (RR), que mata praticamente todas as ervas

daninhas, menos as plantas de soja RR (MONSANTO, 2005).

Na lavoura, a soja RR flexibiliza o controle de ervas daninhas, facilita a rotação de cultura, economiza tempo, combustível, custos operacionais, facilita a colheita e reduz o teor de impureza e umidade nos grãos colhidos, otimizando assim a produção. Para o meio ambiente, proporciona redução da poluição pelo menor uso de outros herbicidas, combustível e pelo incentivo ao uso do plantio direto, em razão da maior facilidade no manejo da lavoura. Para a sociedade, além de melhorar as condições ambientais, espera-se redução no custo de produção e, conseqüentemente, no custo dos produtos e subprodutos no mercado.

Os herbicidas à base de glifosato são altamente eficientes no controle das plantas daninhas anuais e perenes, tanto as de folhas largas quanto as de folhas estreitas. Seletivo à soja RR, o glifosato

permite seu desenvolvimento normal, não deixando resíduos nos grãos de soja nem no solo em cultivo. Na classificação toxicológica, encontra-se no grupo IV, ou seja, produto pouco tóxico (faixa verde) (MONSANTO, 2005).

Início do plantio e da pesquisa com soja transgênica RR no Brasil

No Brasil, apesar da expansão das lavouras de soja na região central, a soja transgênica começou a ser cultivada no final dos anos 1990, na Região Sul. O plantio era feito utilizando sementes de soja originadas da Argentina, conhecidas como soja “Maradona”. O cultivo dessas variedades, desenvolvidas para latitudes altas, limitou-se às regiões do Sul do Brasil. Mesmo assim, a soja transgênica RR (Maradona), por ter seu cultivo considerado de baixo custo e apresentar muita facilidade no manejo, foi levada para a região central do País. Porém, como era esperado, não se adaptou às nossas condições ambientais. As cultivares não tinham período juvenil longo, apresentavam pouca resistência a doenças, elevada

interação com ambiente, baixa estabilidade e baixa adaptabilidade. Conseqüentemente, apresentavam baixas produtividades, além de causarem sérios problemas para o mercado sementeiro.

A Embrapa Cerrados está localizada numa região privilegiada, praticamente no centro do Bioma Cerrado, o que permite a seleção de cultivares de soja com adaptação para as regiões Central e Norte/Nordeste do Brasil. As pesquisas com soja são realizadas com o apoio das equipes de pesquisa em solos (adubação e correção, microbiologia e manejo), fitopatologia, estatística, agricultura de precisão, biologia molecular e integração lavoura-pecuária. O Centro de Pesquisa dispõe de ampla infra-estrutura, permitindo a instalação de experimentos de competição nas safras de verão e avanços de geração e multiplicação de sementes no inverno (época seca), o que aumenta a eficiência dos trabalhos de pesquisa.

A Embrapa iniciou suas pesquisas com a soja transgênica RR no final dos anos 1990, porém os testes só podiam ser feitos em áreas restritas das unidades de pesquisa,

o que atrasou a introdução dessa tecnologia para os produtores. A Embrapa Cerrados, em parceria com a Embrapa Soja, desenvolve seu programa de pesquisa com melhoramento genético de soja desde 1975. O objetivo é desenvolver cultivares de soja com alta adaptação, estabilidade e potencial produtivo, boa qualidade de sementes e resistência às pragas e doenças.

A Embrapa Soja começou os cruzamentos com a soja RR a partir da cultivar BR 16, contendo o gene *CP4 EPSPS* da Monsanto. Esse evento foi realizado nos Estados Unidos pela Monsanto, em acordo com a Embrapa (contrato de parceira técnica 10.200/055-5, firmado em 23 de abril de 1997). Essa linhagem foi utilizada para os cruzamentos seguintes gerando populações segregantes (*bulks*), que foram distribuídas para as outras unidades chegando à Embrapa Cerrados (Contrato Embrapa/Monsanto 1997).

A Embrapa Cerrados começou suas pesquisas com OGMs a partir de 1998, com a liberação do Certificado de Qualidade em

Biossegurança (QGB). O primeiro OGM pesquisado na Embrapa Cerrados foi a soja com o gene *CP4 EPSPS*, que confere tolerância ao glifosato (soja RR), cujo plantio foi feito em novembro de 1998, após a publicação do processo de liberação da CTNBio no DOU nº 99, de 27 de março 1998, sob o nº 01200.00136/98-68. O segundo foi a soja com o gene *ahas*, que confere tolerância aos herbicidas do grupo das imidazolinonas (soja IMI), cujo plantio ocorreu em maio 2001, após a publicação do processo de liberação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) no DOU nº 221-E, de 17 de novembro de 2001, sob o nº 01200.001780/2000-20 (FALEIRO et al., 2004).

A partir dos *bulks* e linhagens encaminhadas pela Embrapa Soja, foram selecionadas milhares de outros genótipos, dando seguimento nas outras etapas do programa de melhoramento – P1, P2, P3 e VCUs (Fig. 1). O fruto inicial desse trabalho resultou na participação da Embrapa Cerrados na criação de quatro cultivares de soja RR, lançadas para a região central do Brasil: BRS Valiosa RR,

BRS Baliza RR e BRS Silvânia RR, BRS Favorita RR (Tabela 1). Essas cultivares foram aprovadas em trabalhos de pesquisa, em rede, executados pela Embrapa e parceiros e coordenados pela Embrapa Cerrados e Embrapa Soja. Seguindo os objetivos dos trabalhos da Embrapa na criação

de variedades de soja, todas essas cultivares apresentam alta adaptação, estabilidade e potencial produtivo, com boa qualidade de sementes e resistência às pragas e doenças. A cultivar BRS Valiosa RR até o momento é a cultivar de soja RR mais plantadas na região central do Brasil.

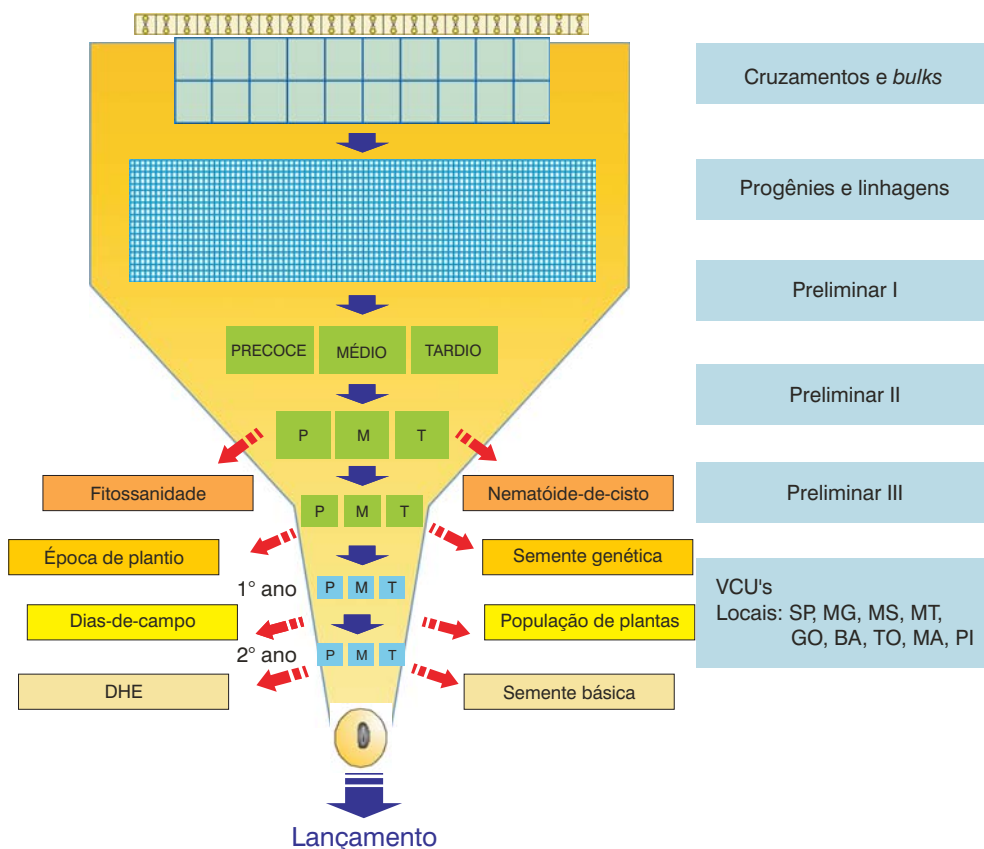


Fig. 1. Estratégia de pesquisa do programa de melhoramento de soja transgênica da Embrapa Cerrados.

Tabela 1. Principais características descritoras das primeiras cultivares de soja lançadas conjuntamente pela Embrapa Soja e Embrapa Cerrados: BRS Favorita RR, BRS Valiosa RR, BRS Silvânia e BRS Baliza RR.

Características	Indicadores	Cultivares			
		BRS Favorita RR GO, DF e MG	BRS Valiosa RR GO, DF e MG	BRS Silvânia RR GO, DF e MG	BRS Baliza RR GO, DF, MG e BA
Área de indicação	Denominação	Semiprecoce	Médio	Semitardio	Tardio
Ciclo (dia)	Floração	50	58	67	64
	Maturação média	118	124	128	136
	Hipocótilo	Roxa	Roxa	Verde	Verde
Cor	Flor	Roxa	Roxa	Branca	Branca
	Hilo	Preta	Preta	Marrom	Preta
	Vagem	Marrom clara	Marrom clara	Marrom	Marrom
	Pubescência	Marrom	Marrom	Marrom	Marrom
Altura	Tegumento da semente	Amarela	Amarela	Amarela	Amarela
	Planta (cm)	68	71	76	82
Hábito de crescimento	Determinado	Determinado	Determinado	Determinado	
Resistência ao acamamento	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa
	Cancro da haste	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Reação a doença	Mancha "olho-de-rã"	Resistente*	Resistente	Resistente	Resistente
	Crestamento bacteriano	Resistente*	Resistente	Sem informação	Sem informação
	<i>Meloidogyne incognita</i>	Sem informação	Sem informação	Suscetível	Suscetível
	<i>Meloidogyne javanica</i>	Resistente	Resistente	Moderadamente tolerante	Tolerante
	Nematóide de cisto	Suscetível	Suscetível	Suscetível	Suscetível
	Mosaico comum	Sem informação	Suscetível	Sem informação	Sem informação
Fusariose	Oídio	Moderadamente Resistente*	Resistente	Suscetível	Moderadamente resistente
	Fusariose	Sem informação	Moderadamente tolerante	Moderadamente suscetível	Moderadamente suscetível
	Pústula bacteriana	Resistente*	Resistente	Resistente	Resistente

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Características	Indicadores	Cultivares		
		BRS Favorita RR GO, DF e MG	BRS Valiosa RR GO, DF e MG	BRS Silvania RR GO, DF e MG
Área de indicação				BRS Baliza RR GO, DF, MG e BA
Peso de 100 sementes (g)		15,7	15	13
Reação a peroxidase		Negativa	Negativa	Negativa
População de plantas		260.000 - 360.000	260.000 – 360.000	250.000 – 300.000
Densidade	Espaçamento 40 cm	11-14	11-14	10-12
	Espaçamento 45 cm	12-16	12-16	11-13
	Espaçamento 50 cm	13-18	13-18	12-15
Fertilidade do solo		Corrigida	Corrigida	Corrigida
Época recomendada de plantio		1/11 a 5/12	01/11 a 5/12	01/11 a 10/12

* Condições de campo.

Biossegurança

De acordo com a Monsanto, foram realizados mais de 1.400 avaliações independentes da composição e nutrição da soja, concluindo que a soja transgênica RR é tão segura quanto à não-transgênica, em relação à segurança alimentar. Esses estudos serviram como base para a aprovação comercial da soja RR em diversos países.

Sob o ponto de vista ambiental, a soja transgênica RR não apresenta possibilidade de cruzamento natural com espécies nativas ou outras culturas, por ser uma espécie exótica no Brasil. Portanto, não poderá contaminar o meio ambiente, uma vez que não há espécies selvagens ou outras cultivadas com compatibilidade sexual com a soja no Brasil.

Uma das preocupações em relação à biossegurança era o fluxo gênico entre a soja transgênica e a convencional, nas áreas de cultivo para semente. Com o objetivo de verificar o fluxo gênico, ensaios de pesquisa foram desenvolvidos pela Embrapa Cerrados, em parceria com a Embrapa Recursos Genéticos e a Basf. Utilizou-se uma

linhagem contendo o gene *ahas* (soja IMI), que confere tolerância aos herbicidas do grupo das Imidazolinonas e, como bordadura da soja não-transgênica que a originou. Os resultados, apesar de preliminares, mostraram que o gene pode ser transferido por cruzamento natural. Com isso, sugere-se que a largura da bordadura com soja não-transgênica semeada em volta dos ensaios e lavouras com soja IMI seja superior a 6,5 m, distância a partir da qual não se observou eventos de fluxo gênico, naquele experimento (ABUD et al., 2003).

Outro trabalho, dentro dessa mesma linha de pesquisa com fluxo gênico, foi desenvolvido pela Embrapa Cerrados em parceria com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia para verificar a que distância ocorreria o cruzamento natural, com a transferência do gene RR. Nesse ensaio, utilizou-se a linhagem BR00-69515, que continha o gene RR, e a BRSMG Conquista, cultivar que deu origem a essa linhagem. Os resultados, apesar de preliminares, mostraram que o gene pode ser transferido até a uma distância de 10 m (ABUD

et al., 2007). Esses resultados foram apresentados em reuniões com produtores e pesquisadores e são utilizados até hoje como referência.

A fixação biológica em soja transgênica também vem sendo estudada. A Embrapa Cerrados vem desenvolvendo pesquisa nessa linha desde 2003. O objetivo é avaliar a fixação biológica do nitrogênio e o estado nutricional em soja geneticamente modificada, tolerante ao herbicida glifosato, e monitorar o impacto ambiental da transgenia e o manejo sobre a microbiota do solo (ANDRADE et al., 2004).

Todos esses trabalhos foram acompanhados e analisados pela CTNBio.

Manejo de plantas invasoras em áreas de cultivo com soja transgênica

O controle de plantas invasoras em áreas de cultivo com soja é de fundamental importância para a obtenção de altas produtividades. As plantas invasoras representam um grande problema para qualquer exploração agrícola, porque elas competem pela luz solar, pelos nutrientes e pela água, podendo dificultar a operação de colheita e comprometer a qualidade do grão, dependendo da espécie e do nível de infestação (Fig. 2).



Fig. 2. Lavoura de soja sem controle adequado de plantas invasoras.

O controle dessas plantas invasoras é feito utilizando-se herbicidas. Suas vantagens são a economia de mão-de-obra e a rapidez na aplicação dos produtos. Porém, com a ocorrência de ervas daninhas de difícil controle, necessita-se cada vez mais de herbicidas diferentes e um maior número de aplicações, o que dificulta o manejo da lavoura de

soja, aumenta o custo de produção e também o impacto ambiental.

O cultivo da soja transgênica RR, resistente ao glifosato, diminui o impacto ambiental causado pelos herbicidas e reduz o custo de produção, em razão do uso de apenas glifosato para o controle das plantas daninhas, proporcionando grande facilidade no manejo da lavoura (Fig. 3).



Fig. 3. Lavoura de soja RR com um bom controle de ervas daninhas.

Em lavouras que utilizam o plantio direto, no cultivo da soja transgênica RR, é necessária a utilização de herbicidas para a dessecação da palhada e, após a semeadura, a utilização de glifosato para o controle das plantas daninhas. Nas áreas com alta pressão de infestação, sugere-se que a dessecação seja feita com antecipação de 20 a 25 dias da semeadura, para o controle das plantas daninhas. As espécies daninhas que, possivelmente, emergirem nesse intervalo podem ser controladas por meio de uma segunda aplicação, realizada próxima à semeadura, utilizando doses reduzidas de dessecante.

Durante o ciclo da soja, quer seja no cultivo convencional ou no plantio direto, o controle das plantas daninhas poderá ser feito utilizando- apenas uma dose de glifosato, entre 25 e 35 dias, dependendo do nível de infestação das ervas e do estágio de desenvolvimento da soja. Nas áreas com alta pressão de infestação de plantas daninhas e(ou) presença de ervas de difícil controle, sugere-se o controle seqüencial. Nesse caso, faz-se uma aplicação de

glifosato, entre 12 e 15 dias, após a emergência da soja e uma segunda aplicação, entre 25 e 35 dias, para o controle das ervas que ressurgirem.

Sementes-pirata

A utilização de sementes-pirata ou sem origem e integridade genética garantida tem preocupado muito as instituições ligadas ao agronegócio da soja. O uso dessa prática ocorre em decorrência de uma fiscalização ainda deficiente, a curiosidade por uma nova tecnologia e, principalmente, o desconhecimento dos produtores de soja sobre os prejuízos que ela pode causar ao setor sementeiro e produtivo.

A utilização de semente de alta qualidade é uma das principais garantias do sucesso na produção da cultura da soja. As empresas de pesquisas podem levar 10 anos para desenvolver uma cultivar que atenda às necessidades dos sojicultores, agregando elevado potencial de rendimento, melhor estabilidade e adaptabilidade, maior resistência a doenças, além da qualidade fisiológica e sanitária da semente de soja.

No mercado de sementes, as características de qualidade

diferenciam as sementes melhoradas geneticamente do grão comum, vendido muitas vezes como semente-pirata. A semente-pirata é aquela comercializada sem a permissão do obtentor da cultivar, sem origem oficial, sem garantia de qualidade e integridade genética. Com isso, todos perdem, principalmente o agricultor, que potencialmente está utilizando uma mercadoria de baixa qualidade. Essa semente é produzida e comercializada fora do sistema nacional de sementes e, portanto, sem nenhum tipo de fiscalização e controle, não oferecendo nenhuma garantia ou padrão de qualidade ao agricultor. Existe também a semente

oriunda de contrabando, que agrava mais ainda a situação, pois pode introduzir pragas e doenças já erradicadas ou ainda inexistentes, prejudicando toda uma região ou o país. A semente-pirata pode conter, ainda, misturas de sementes não-transgênicas, em razão da baixa qualidade na colheita e no beneficiamento, dificultando o estabelecimento da população de plantas, após a utilização do glifosato no controle das plantas daninhas (Fig. 4). Tudo isso resulta na degeneração das variedades, reduzindo significativamente as produtividades, trazendo grandes prejuízos para todo o agronegócio da soja no País.



Fig. 4. Plantas de soja convencional, mortas pelo glifosato, misturadas à soja RR.

As conseqüências dos danos causados pela utilização de sementes pirata à sojicultura brasileira são incalculáveis. Além dos prejuízos diretos, fatalmente causa a cada agricultor os prejuízos indiretos, que são ainda mais danosos e com efeitos mais profundos e abrangentes. O seguimento mais afetado é o do setor sementeiro, em seguida o da pesquisa e, finalmente, o agricultor, que verá seus problemas aumentarem, sua produtividade reduzir e não terá a pesquisa para mantê-lo em ascensão técnica ou socorrê-lo quando precisar.

Integração lavoura-pecuária

A abertura de novas áreas para o cultivo de soja, principalmente quando se fala em desmatamento, é sempre motivo de grandes polêmicas. No Brasil, aproximadamente 50 milhões de hectares de pastagem encontram-se degradados ou em degradação. O cultivo da soja, no sistema de integração lavoura-pecuária permite a recuperação dessas áreas, além de aumentar a produção de grãos e de carne sem a necessidade de desmatar novas áreas.

Normalmente, as áreas utilizadas com pastos, por não haver uma boa adubação de manutenção, têm sua fertilidade reduzida, baixando a capacidade de suporte de animais e, conseqüentemente, sua produtividade.

A soja RR pode ser um importante componente nas tecnologias que estão sendo desenvolvidas para a recuperação das áreas de pasto, na integração lavoura-pecuária.

A soja é uma cultura que vem sendo utilizada com sucesso para a recuperação dessas áreas. Seu cultivo melhora a fertilidade do solo, pois deixa resíduos de nitrogênio, fixados pela simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, e também de outros nutrientes utilizados na adubação da soja. Um dos manejos para a recuperação dessas áreas é feito plantando-se uma cultivar de soja RR de ciclo curto juntamente com semente de capim. Essa prática reduz o custo de uma operação (semeio do capim). Após a colheita da soja, no final do mês de fevereiro, o capim passa a se desenvolver utilizando os resíduos da lavoura de soja. A principal dificuldade dessa prática é manter o pasto com desenvolvimento

reduzido durante o ciclo da soja. Para isso, com o cultivo de soja RR, pode-se fazer a aplicação de doses de glifosato, que controla as ervas daninhas e reduz o desenvolvimento do capim.

O cultivo da soja RR, no sistema de integração lavoura-pecuária, reduz o custo de produção e permite a recuperação dessas áreas, além de aumentar a produção de grãos e de carne sem a necessidade de desmatar novas áreas.

Referências

- ABUD, S.; SOUZA, P. I. M.; VIANNA, G. R.; LEONARDECZ, E.; MOREIRA, C. T.; FALEIRO, F. G.; NUNES JÚNIOR, J.; MONTEIRO, P. M. F. O.; RECH, E. L.; ARAGÃO, F. J. L. Gene flow from transgenic to nontransgenic soybean plants in the Cerrado region of Brazil. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 6, n. 2, p. 345-352, 2007.
- ABUD, S.; SOUZA, P. I. M.; MOREIRA, C. T.; ANDRADE, S. R. M.; ULBRICH, A. V.; VIANNA, G. R.; RECH, E. L.; ARAGÃO, F. J. L. Dispersão de pólen em soja transgênica na região do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1229-1235, 2003.
- ANDRADE, S. R. M.; SOUZA, P. I. M.; MOREIRA, C. T.; ABUD, S.; MENDES, I. C.; REIS JÚNIOR, F. B.; FALEIRO, F. G. Pesquisas com OGMs realizadas na Embrapa Cerrados. In: ENCONTRO NACIONAL DAS COMISSÕES INTERNAS DE BIOSSEGURANÇA, 2., 2004, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: CNTBio, 2004. p. 20.
- FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; SOUZA, P. I. M.; MOREIRA, C. T.; MENDES, I. C.; REIS JÚNIOR, F. B. Comissão interna de biossegurança da Embrapa Cerrados: um breve histórico. In: ENCONTRO NACIONAL DAS COMISSÕES INTERNAS DE BIOSSEGURANÇA, 2., 2004, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: CNTBio, 2004. p. 23.
- MONSANTO. **Soja transgênica**. Disponível em <http://www.Monsanto.com.br/mapa_do_site>. Acesso em: 20 abr. 2005.

Embrapa

Cerrados

ISBN 978-85-7075-050-1



9 788570 750501

CGPE 7675

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

