



BIO[®]
TECNOLOGIA
Ciência & Desenvolvimento

KL3

ano VIII • número 34 • janeiro/junho de 2005

EDIÇÃO ESPECIAL - Meio ambiente

Entrevista - Aluizio Borém

A História da biotecnologia

Bioindicadores para uma análise de risco ambiental

Impacto da biotecnologia na biodiversidade

Bioprospeção

Biorremediação

Fundamentos da análise de risco

Risco e segurança ambiental

O princípio da precaução

Bacillus thuringiensis

Considerações sobre o fluxo gênico

Variedades transgênicas e meio ambiente

Resistência de insetos a plantas geneticamente modificadas

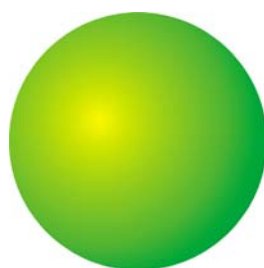
Feralidade vegetal e transgenese

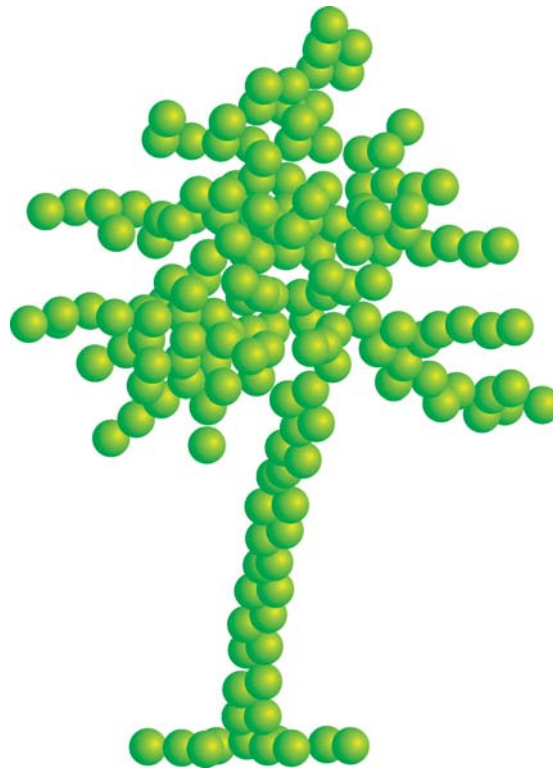
ISSN 1414-6347



34

EM MAIO DE 1997 PLANTAMOS A PRIMEIRA SEMENTE DE BIOTECNOLOGIA NA IMPRENSA BRASILEIRA

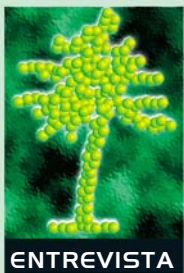




AGORA VOCÊ PODE COLHER OS FRUTOS

www.biotecnologia.com.br

KL3



Meio Ambiente

O maior desafio é a conservação da megadiversidade existente no território nacional

Aluizio Borém

*Eng. Agrônomo, M.S., Ph.D. e Professor da
Universidade Federal de Viçosa
borem@ufv.br*

Dr. Aluizio Borém é Coordenador do nosso conselho científico, é um membro sempre presente e atuante, tem 26 livros publicados no Brasil e no exterior, fora os inúmeros artigos dedicados à periódicos, como para a Revista Biotecnologia. Prof. Borém possui doutorado em Genética e Melhoramento pela University of Minnesota, Pós-doutorado em Genética Molecular pela mesma universidade e é presidente da Regional Minas Gerais da Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas. Prof. Borém foi membro da CTNBio e vice-presidente da Câmara de Biotecnologia e Agronegócio da Federação das Indústrias de Minas Gerais - FIEMG.

Nessa entrevista para a Revista Biotecnologia, esse também professor da Universidade de Viçosa, nos faz um relato dos principais questionamentos sobre aquilo que nunca poderemos esquecer, uma vez que não podemos nem ao menos sobreviver sem ele: o meio ambiente.



BC&D - Dr Borém, foi o Senhor quem providenciou e elaborou essa edição especial. O que o fez pensar nesse tema em particular, ou melhor, por que o meio ambiente?

Aluízio Borém - A biotecnologia disponibilizou sua primeira variedade geneticamente modificada em fevereiro de 1994, o tomate Flavr Savr, desenvolvido pela então Calgene. Para a aprovação desta e das variedades GM que chegaram ao mercado nos anos seguintes, órgãos governamentais de diferentes países submeteram estes produtos à rígidas e criteriosas análises de biossegurança. Estas análises se baseiam em experimentação e testes realizados por várias instituições de pesquisa para avaliar a segurança sob o ponto de vista alimentar e ambiental. Nos primeiros anos dos OGMs no mercado, várias ONGs questionaram, especialmente, a segurança alimentar destes produtos. Mais recentemente, o foco dos questionamentos se voltaram para a segurança ambiental. Aliás esse foi o principal tema debatido no Biowork VII. Considerando que críticas atuais aos OGMs estão relacionadas a possíveis efeitos adversos ao Meio Ambiente, surgiu então a idéia de reunir os maiores especialistas em diferentes áreas da interface da biotecnologia com o meio ambiente, para abordar justamente este tema, que foi muito debatido no Biowork VII, evento esse realizado na Universidade Federal de Viçosa, agora em Agosto e que, simultaneamente, disponibilizou estas informações àqueles que não tiveram oportunidade de participar do workshop.

BC&D - Dr. Borém, poderia nos resumir, em poucas palavras, sobre quais são os principais problemas que o Brasil enfrenta na área de meio ambiente?

Aluízio Borém - Com o avanço tecnológico, não só o Brasil, mas a grande maioria dos países, enfrentam hoje problemas de degradação ambiental. Nestes incluem-se poluição do solo, da água e do ar, redução

e fragmentação das florestas, redução da biodiversidade etc.

BC&D - A seu ver, o que poderia ser feito?

Aluízio Borém - O Brasil possui legislação satisfatória para preservação do meio ambiente, mas infelizmente a certeza de impunibilidade

“Hoje o Brasil já é o celeiro do mundo. A perspectiva é ainda mais promissora, pois temos tecnologia genuinamente nacional desenvolvida para produção em regiões tropicais”

tem motivado muitos a ignorarem as leis. A crescente consciência pública sobre a necessidade de conservação dos recursos naturais tem resultado em maior vigilância da população à ações degradadoras do meio ambiente. Entretanto, há necessidade de que o governo tome medidas enérgicas contra as grandes agressões ao meio ambiente, como as queimadas

“O Brasil possui legislação satisfatória para preservação do meio ambiente, mas infelizmente a certeza de impunibilidade tem motivado muitos a ignorarem as leis”

por exemplo, ou contra o uso de metais pesados na extração do ouro, etc.

BC&D - Do seu ponto de vista, quais os marcos que transformaram o Brasil em potência na área de biotecnologia no cenário mundial?

Aluízio Borém - Os investimentos realizados pelo governo brasileiro, a partir dos anos 80, na formação de recursos humanos no exterior inicialmente e posteriormente no próprio Brasil, resultou numa massa crítica altamente qualificada, que tem con-

tribuído para o progresso da ciência no cenário mundial.

BC&D - A biossegurança está, realmente, preservando os interesses na saúde humana e no meio ambiente no Brasil?

Aluízio Borém - As variedades GM desenvolvidas são seguras para consumo humano e para plantio em larga escala nos países em que foram liberadas. Estas variedades têm trazido benefícios para a saúde humana de forma indireta, pois muitos destes alimentos, como o milho Bt, possuem menor teor de micotoxinas cancerígenas, como a fumonisina, bem como menor teor de resíduos de inseticidas. E em breve estará chegando ao mercado as variedades que estão sendo desenvolvidas para serem mais nutritivas e saudáveis para o homem.

BC&D- Como você vê a discussão do decreto que regulamenta a Lei de Biossegurança aprovada esse ano pelo congresso nacional?

Aluízio Borém - A discussão do Projeto da Lei de Biossegurança, embora tenha se arrastado demasiadamente, fez parte do processo democrático e permitiu que toda a sociedade, bem como os parlamentares, se inteirassem de seus vários aspectos antes de aprová-la. Na nossa análise, o mais importante agora é que as pesquisas voltem ao seu ritmo normal, para evitar prejuízos ainda maiores ao País e à comunidade científica brasileira.

BC&D- Como pesquisador, qual a sua opinião sobre a evolução das pesquisas OGM's no Brasil?

Aluízio Borém - As pesquisas estão evoluindo, apesar do excesso de entraves burocráticos exigidos para a condição dos trabalhos. Os avanços poderiam ser maiores se maior agilidade fosse dada às autorizações e licenças de pesquisa.

BC&D - Temos uma CTNBio ideal? Qual seria esta CTNBio?

Aluízio Borém - A nova Lei de Biossegurança, aprovada pelo Congresso Nacional e sancionada pelo Presidente da República, em março deste ano, estabelece o novo formato da CTNBio, com seus 54 membros, titulares e suplentes. Mais importante do que ter uma CTNBio ideal é termos a CTNBio com regras claras e exequíveis para nossos pesquisadores seguirem. A Comunidade científica certamente desenharia uma CTNBio diferente da estabelecida com a nova legislação, mas nossa expectativa é a de que será possível trabalhar de forma produtiva mesmo com este novo formato.

BC&D - O Senhor acha que o pesquisador em geral, seja nas universidades ou nos centros de pesquisa, se sente apoiado pela lei de patentes? Há em nossas Universidades departamentos que fornecem real apoio a esses pesquisadores?

Aluízio Borém - No Brasil ainda existe muito tabu sobre este assunto. Muitos de nossos colegas ainda não enxergam os benefícios para sua instituição e para o seu laboratório que as patentes podem trazer, mas isto está mudando. Algumas instituições possuem bons escritórios para darem apoio aos pesquisadores na solicitação de patentes para seus inventos, mas ainda há um longo caminho a ser percorrido.

BC&D - Qual a maior ameaça ao meio ambiente, especificadamente, no Brasil?

Aluízio Borém - A maioria dos pesquisadores brasileiros entendem que o maior desafio é a conservação da megadiversidade existente no território nacional. O Brasil é detentor da maior biodiversidade do planeta, mas muito vem sendo perdido com as queimadas e a fragmentação de nossos biomas. Na Mata Atlântica a parte residual é lamentavelmente muito pequena. Nos outros biomas brasileiros, como a caatinga, o cerrado, campos sulinos e floresta amazônica, há a necessidade de uma ação mais forte por parte do governo brasilei-

ro. A participação da população brasileira também pode ter importante papel nesta preservação.

BC&D- Muito se fala sobre o temor da engenharia genética proporcionando impacto no meio ambiente. Há o que temer?

Aluízio Borém - Embora a biotecnologia possua grande potencial para modificar as plantas, a população pode ficar tranqüila que somente variedades que são aprova-

"Mais importante do que ter uma CTNBio ideal é termos a CTNBio com regras claras e exequíveis para nossos pesquisadores seguirem"

das em todos os testes de segurança ambiental são liberadas para plantio em escala comercial. Estes testes são realizados por vários anos e por diferentes instituições de pesquisa, avaliando possíveis efeitos adversos para a microbiota do solo, para organismos não-alvo da tecnologia, para a biodiversidade, para o lençol freático, etc. Qualquer evidência de possível danos ao meio ambiente é suficiente para que se veto a liberação comercial do produto. Estas análises de biossegurança foram validadas internacionalmente pela *United Nations*

"Nos outros biomas brasileiros, como a caatinga, o cerrado, campos sulinos e floresta amazônica, há a necessidade de uma ação mais forte por parte do governo brasileiro"

Environment Programme (UNEP), programa da ONU voltado para a preservação do Meio Ambiente. Adicionalmente, estas análises vem sendo realizadas desde o começo dos anos 90, quando se iniciou a avaliação de segurança ambiental das primeiras variedades GM. Uma evidência de que estes procedimentos são rígidos e eficientes é que nenhum dano ao Meio Ambiente ocorreu em

decorrência do plantio destas variedades ao longo destes mais de 10 anos, e em uma área acumulada superior a 385 milhões de ha.

BC&D - Também muito se fala que o Brasil será o celeiro do mundo. Há um exagero nisso? Será que, só com o domínio das novas tecnologias, isso seria possível?

Aluízio Borém - O Brasil já é o celeiro do mundo. Com o progresso experimentado pelo País nestes últimos anos, tornando o segundo maior produtor de soja, maior produtor de feijão, maior produtor de carne bovina, dentre vários outros alimentos, hoje o Brasil já é celeiro do mundo. A perspectiva é ainda mais promissora, pois temos tecnologia genuinamente nacional desenvolvida para produção em regiões tropicais. As universidades, a Embrapa e outras instituições de pesquisa do País transformaram este sonho de 20 anos atrás em realidade nos dias atuais.

BC&D - Para finalizar, já que "somos os arquitetos de nosso destino", teremos o destino que construímos baseado na direção que dermos ao aproveitamento e exploração do meio ambiente, principalmente agora em que dominamos tecnologias jamais imaginadas. Qual o recado que enviaria aos pesquisadores que começam a ter o domínio de tais tecnologias?

Aluízio Borém - Minha palavra final não poderia deixar de ser de estímulo. Muitos não acreditavam que o Brasil se destacasse como grande produtor e exportador de alimentos, e hoje nossa posição já está consolidada. Portanto, gostaria que nossos colegas continuassem sonhando alto. Os desafios para o sucesso em qualquer projeto em geral são grandes, mas somente com persistência, muito trabalho e acreditando no futuro do Brasil poderemos dar nossa contribuição e transformar o Brasil, passando de um País grande, para um "Grande País". O sonhar antecede o realizar!



PRÊMIO MASTER DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Prêmio Master de Ciência e Tecnologia para a Revista Biotecnologia

A KL3 Publicações, através da *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, recebeu, em 24 de Junho de 2005, em Campinas, o Prêmio Master de Ciência e Tecnologia 2005, promovido pelo Instituto de Estudos e Pesquisa da Qualidade, “por sua contribuição ao desenvolvimento da ciência e tecnologia no Brasil”

A Revista Biotecnologia agradeceu, em nome de todo o conselho científico e em nome de todos os pesquisadores que contribuíram todos esses anos divulgando suas pesquisas.





KL3

**BIOTECNOLOGIA Ciência & Desenvolvimento
KL3 Publicações Ltda**

Fundador

Dr. Henrique da Silva Castro

Direção Geral e Edição

Ana Lúcia de Almeida

Diagramação e design

Luiz Dourado Bezerra

E-mail

biotecnologia@biotecnologia.com.br

Home-Page

www.biotecnologia.com.br

Projeto Gráfico

KL3 Publicações Ltda

SHIN CA 02 Bloco "C"

Edifício Garden Place salas 225/226

Lago Norte - Brasília - DF

Cep 71503-502

Tel.: (061) 3468-6099

Fax: (061) 3468-3214

**Os artigos assinados são de
inteira responsabilidade
de seus autores.**

ISSN 1414-6347



Colaboraram nesta edição

Aluizio Borém
Antônio Vargas de Oliveira Figueira
Celso Omoto
Christine Claire Gaylarde
Deise Maria Fontana Capalbo
Galdino Andrade
Gilson Paulo Manfio
Gislaine Trindade Vilas-Bôas
Itamar Soares de Melo
Luciano Lourenço Nass
Luiz Roberto Guimarães Guilherme
Marco Antônio Nogueira
Maria C. M. D Pavani
Maria de Lourdes Bellinaso
Marise T. Suzuki
Maurício Antônio Lopes
Olívia M. Nagy Arantes
Reginaldo Lopes Minaré
Robison A. Pitelli
Samuel Martineili
Wagner Augusto Benedito

NOTA: Todas as edições da Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento estão sendo indexadas para o AGRIS (International Information System for the Agricultural Sciences and Technology) da FAO e para a AGROBASE (Base de Dados da Agricultura Brasileira).

Conselho Científico

Dr. Aluizio Borém - Genética e Melhoramento Vegetal
Dr. Henrique da Silva Castro - Saúde;
Dr. Ivan Rud de Moraes - Saúde - Toxicologia;
Dr. João de Deus Medeiros - Embriologia Vegetal;
Dr. Naftale Katz - Saúde;
Dr. Pedro Jurberg - Ciências;
Dr. Sérgio Costa Oliveira - Imunologia e Vacinas;
Dr. Vasco Ariston de Carvalho Azevedo - Genética de Microorganismos;
Dr. William Gerson Matias - Toxicologia Ambiental.

Conselho Brasileiro de Fitossanidade - Cobrafi

Dr. Luís Carlos Bhering Nasser - Fitopatologia

Fundação Dalmo Catauli Giacometti

Dr. Eugen Silvano Gander - Engenharia Genética;
Dr. José Manuel Cabral de Sousa Dias - Controle Biológico;
Dra. Marisa de Goes - Recursos Genéticos

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

Dr. José Roberto Rogero

Sociedade Brasileira de Biotecnologia - SBBiotec

Dr. Luiz Antonio Barreto de Castro - EMBRAPA
Dr. Diógenes Santiago Santos - UFRGS
Dr. José Luiz Lima Filho - UFPE
Dra. Elba P. S. Bon - UFRJ



Entrevista

Meio ambiente - Aluizio Borem

pág. 04

ESPECIAL - Meio Ambiente

A história da biotecnologia

pág. 10

Bioindicadores para uma análise de risco ambiental

pág. 13

Impacto da biotecnologia na biodiversidade

pág. 22

Bioprospecção

pág. 29

Biorremediação

pág. 36

Fundamentos da análise de risco

pág. 44

Risco e segurança ambiental

pág. 56

O princípio da precaução

pág. 65

Resistência de insetos a plantas geneticamente modificadas

pág. 67

Bacillus thuringiensis

pág. 78

Considerações sobre o fluxo gênico

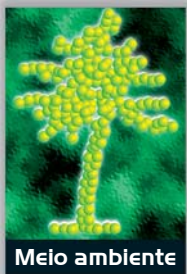
pág. 86

Variedades transgênicas e meio ambiente

pág. 91

Feralidade vegetal e transgenese

pág. 100



A HISTÓRIA DA BIOTECNOLOGIA

A ciência que está surpreendendo até os mais otimistas

Aluizio Borém

Eng. Agrônomo, M.S., Ph.D. e Professor da
Universidade Federal de Viçosa
borem@ufv.br

Muito antes mesmo que o homem entendesse a biologia, ele já lidava com a biotecnologia na produção de vinhos e pães. Após o acúmulo de conhecimentos e experiência a respeito da biotecnologia moderna, sua definição deve cobrir as várias técnicas que utilizam o DNA recombinante para gerar produtos ou serviços. Não restam dúvidas de que a biotecnologia do século XXI é muito diferente daquela quando este termo foi, pela primeira vez, usado no século passado para descrever procedimentos de produção de vinhos, pães e derivados lácteos. No contexto atual, essas técnicas não se enquadrariam na biotecnologia. De forma semelhante, embora se adote uma definição abrangente, a manipulação gênica por meio de enxertia e, ou, o uso de microrganismos para fermentação não são tratados neste livro. O que distingue essas procedimentos da biotecnologia moderna não são os princípios envolvidos, mas as técnicas utilizadas. Por exemplo, o melhoramento genético de plantas e o melhoramento molecular compartilham vários aspectos e têm, muitas vezes, o mesmo objetivo. Ambos buscam desenvolver variedades mais úteis ao homem. O melhoramento molecular difere do melhoramento genético convencional ao tornar o desenvolvimento varietal um procedimento com resultados previsíveis. Com a engenharia genética, é possível transferir genes específicos de uma espécie doadora para a receptora, de forma controlada.

O ser humano, as plantas e demais seres vivos são constituídos por moléculas que contêm carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo e enxofre, além de outros elementos em diferentes proporções. Os seres vivos são constituídos de proteínas, as quais executam a maior parte das funções celulares e são responsáveis por vias metabólicas. Estas vias geram todos os produtos orgânicos secundários, como carboidratos e lipídios, componentes dos tecidos nos animais, da celulose nas plantas etc.

A biotecnologia opera em nível molecular, onde as barreiras estabelecidas na formação das espécies desaparecem; isso é possível porque todos os seres vivos possuem o DNA como molécula fundamental portadora da informação gênica e compartilham o mesmo código genético, que codifica e determina as proteínas dos homens, dos animais, das plantas, dos insetos e microrganismos. Esse código simplesmente transforma a seqüência dos nucleotídeos no DNA (A, C, G ou T) em seqüências de aminoácidos, que constituem as proteínas. Cada proteína é derivada, portanto, da transcrição e tradução de um gene. O conjunto de vários genes em uma mesma molécula de DNA forma o cromossomo. Finalmente, cada espécie tem um genoma próprio, composto de todos os seus genes organizados nos cromossomos, cujo número varia com as espécies.

Uma das características da biotecnologia que têm contribuído para o receio que muitos manifestam em relação a ela é a velocidade como esta ciência evoluiu nos últimos anos e como sua aplicação em benefício da sociedade atingiu o mercado de forma tão inesperada.

Quando a biotecnologia passou a ocupar a atenção dos cientistas e dos leigos de forma intensa, a partir dos anos 80, a maioria das pessoas se sentia desconfortável com ela. Frequentemente se escutavam debates sobre a possibilidade de a biotecnologia resolver todos os problemas da produção de alimentos. Lamentavelmente, a forma e a rapidez com que a biotecnologia apareceu no meio científico levaram muitos dos que estavam trabalhando há anos para resolver os problemas da agricultura a uma situação desconfortável. Em determinada ocasião, chegou-se a pensar que a biotecnologia, uma ciência emergente, fosse substituir o melhoramento genético clássico, uma ciência que produziu variedades de milho, arroz, laranja, rosas etc. e novas linhagens de suínos, aves etc., contribuindo para a maior oferta de produtos agropecuários. Essa jamais seria uma boa notícia para aqueles que já haviam dedicado grande parte de sua vida profissional ao desenvolvimento de variedades melhoradas ou daqueles que tinham concluído cursos de graduação, mestrado ou doutorado em genética clássica. A falta de *marketing* da biotecnologia em muito contribuiu para uma postura de reserva de muitos em relação a ela. Felizmente, hoje, debates sobre a ameaça de o melhoramento molecular substituir o melhoramento clássico são anacrônicos; atualmente, essas duas ciências são vistas como complementares.

A biotecnologia anterior ao século XXI

Embora os microrganismos fossem utilizados na produção de vinhos desde a mais remota história, foi a

Quadro 1. Algumas características genéticas de diferentes espécies

Espécie	Número de cromossomos	Tamanho do genoma (Mb)	Número de genes
Homem	46	3.000	24.000
Trigo	42	16.000	50-75.000
Milho	20	2.500	50.000
Soja	40	1.100	-
Arroz	24	430	25.000
<i>Arabidopsis</i>	5	125	26.000

descoberta das células em um pedaço de cortiça por Robert Hooke, em 1665, que desencadeou a onda de descobertas e invenções em biologia. Cerca de 10 anos mais tarde, Anton van Leeuwenhoek construiu um microscópio com capacidade de ampliação de 270 vezes, o que o permitiu ver, pela primeira vez, os microrganismos. O microscópio descortinou um novo mundo, anteriormente invisível ao homem.

Somente 170 anos mais tarde que Matthias Schleiden e Theodore Schwann lançaram a teoria de que todos os organismos vivos são constituídos de células. Novas questões surgiram diante dos recentes conhecimentos, incentivando os cientistas a questionar por que os filhos tendem a apresentar características semelhantes às dos pais. Foi somente no final do século XIX que o monge Gregor Mendel, que trabalhava em Brno, República Tcheca, conseguiu desvendar os segredos da hereditariedade. Os cruzamentos de ervilhas com diferentes cores de flores realizados por Mendel, em 1865, criaram uma nova ciência: a genética.

No Quadro 1 apresentam-se o número típico de cromossomos e estimativas do tamanho do genoma e do número de genes em diferentes espécies.

O ano de 1953 foi um marco para a genética, com a descoberta da estrutura helicoidal do DNA por dois cientistas da Universidade de Cambridge, Inglaterra: o americano James Watson e o inglês Francis Crick. Os trabalhos de ambos revolucionaram a genética e aceleraram as descobertas da estrutura fina do DNA. Eles demonstraram que a dupla hélice se constituía de duas

fitas pareadas, cada uma com sua sequência de nucleotídeos, complementar a outra, isto é, na posição onde havia um A na primeira, aparecia um T na segunda, e onde havia um G aparecia um C, e vice-versa.

A Era da Engenharia Genética começou com a primeira transformação gênica obtida com sucesso em 1973, realizada por Hebert Boyer e Stanley Cohen na Califórnia. Estes cientistas construíram um gene com parte do DNA bacteriano e parte do DNA de sapo (*Xenopus laevis*). A experiência destes pesquisadores abriu as portas para uma nova forma de se fazer o melhoramento genético e desenvolvimento de variedades.

O melhoramento genético convencional

Nos primórdios da agricultura, quando os agricultores iniciaram a domesticação das espécies, selecionando os tipos mais desejáveis, o melhoramento realizado subjetivamente resultou nas primeiras alterações genotípicas direcionadas. Os resultados desses esforços primitivos contribuíram, de forma decisiva, para o processo evolucionário das espécies cultivadas. Com a descoberta do sexo no reino vegetal, a hibridação de tipos diferentes foi incorporada às técnicas de melhoramento. Todavia, foram os clássicos experimentos de Gregor Mendel que forneceram as bases para o entendimento e a manipulação da hereditariedade, visando ao melhoramento e desenvolvimento de novas variedades. Ainda hoje, alguns melhoristas acreditam que o melhoramento depende quase que exclusivamente da habilidade do cientista em

detectar diferenças que possam ter importância econômica. Muitos dos primeiros melhoristas eram agricultores com aguçado instinto de observação que, ao detectarem plantas atípicas em um campo, colhiam-nas para obtenção de sementes. Atualmente, com o avanço do conhecimento em genética, fisiologia, estatística, botânica, agronomia e outras áreas, o melhoramento de plantas tem-se tornado mais ciência que propriamente arte.

Quando se pensa no aumento da produção de alimentos, isso pode ocorrer de três maneiras: pela expansão da área cultivada, item em que o Brasil se sobressai por ter ainda diversas fronteiras agricultáveis. Todavia, essas áreas são limitadas e, no futuro, não estarão mais disponíveis. Por absoluto imperativo de sobrevivência, agricultores chineses têm avançado em ecossistemas frágeis e em reservas biológicas, com irreparáveis danos ecológicos. A expansão da área cultivada não deve ser considerada, em muitos casos, a alternativa de aumento da produção de alimentos. Uma segunda maneira de se aumentar a produção de alimentos é por meio da melhoria das condições do ambiente, como adubação, práticas culturais corretas, controle de pragas e doenças, uso de sementes de qualidade, irrigação etc. A terceira maneira é por meio do melhoramento genético das plantas.

Algumas das características freqüentemente consideradas em diversos programas de melhoramento são: aumento de produtividade, resistência às pragas e doenças e qualidade nutricional dos alimentos, dentre outras.

A resistência às pragas e doenças tem sido um dos principais alvos do melhoramento genético convencional. Por exemplo, o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) desenvolveu, pelo melhoramento clássico, variedades de feijão resistentes aos carunchos (bruquídeos), com a introdução do gene que codifica para a proteína arcelina, que é letal a esses insetos, porém inócua ao homem e aos demais animais.

Alguns acreditam que os alimentos atualmente disponíveis foram encontrados na natureza pelo homem da forma que hoje são conhecidos. O

feijão que se consome, o milho que se utiliza na alimentação humana e animal são completamente diferentes daqueles que os antepassados utilizavam. Os feijões silvestres domesticados pelo homem nos últimos 12.000 anos, e que hoje ainda existem no México e em alguns países andinos, são completamente diferentes dos atuais. Com sementes menores que as de mamão, de difícil cocção, baixa digestibilidade e com sabor adstringente, o feijão silvestre foi geneticamente modificado pelos agricultores primitivos, de forma que hoje se dispõe de variedades com grãos grandes, de fácil cocção e com boa digestibilidade. O ancestral do milho, o teosinto, foi também modificado pelo homem ao longo dos milênios, dando origem ao milho moderno. Foi a engenhosidade humana, trabalhando-se os princípios da genética, de forma inconsciente, que resultou nas espécies agrônômicas hoje utilizadas.

Com a descoberta das leis da genética por Mendel, publicadas em 1865, o homem passou a ter acesso a um conhecimento que lhe permitiria a modificação genética das espécies de forma mais precisa e rápida. Entretanto, Mendel foi ignorado por seus contemporâneos e seus escritos permaneceram inutilizados por 35 anos, até que em 1900 as Leis da Genética foram redescobertas e a modificação genética das plantas pôde ser realizada de forma científica. Nascia então o melhoramento genético das plantas, mostrando que Mendel estava certo!

Até cerca de 30 anos atrás, o Brasil não figurava nas estatísticas da produção mundial de soja. Hoje, o País é o segundo maior produtor do mundo, com produtividade superior a 2.400 kg/ha (comparável à dos Estados Unidos – principal produtor mundial). Foi o melhoramento genético que, ao desenvolver variedades mais produtivas e resistentes às pragas e doenças, permitiu que a soja pudesse ser cultivada de norte a sul do País.

A maçã talvez seja um dos exemplos mais facilmente perceptíveis da contribuição do melhoramento de plantas para a disponibilização de alimentos no Brasil. Quem não se

lembra de, ao comprar maçãs, encontrar apenas as importadas e de custo elevado até cerca de 25 anos atrás? O primeiro trabalho de melhoramento em macieiras no Brasil foi feito em 1940, pelo agricultor paulista A. Bruckner, que selecionou a primeira variedade nacional dessa fruteira. Desde então, inúmeras outras variedades foram desenvolvidas, o que vem garantindo o abastecimento do mercado brasileiro com maçãs de excelente qualidade: frutos vermelhos, suculentos, firmes e de preço acessível.

Melhoramento genético biotecnológico

O conhecimento científico continuou evoluindo desde Mendel e a genética clássica passou a contar com recursos ainda mais modernos, dando origem à genética molecular, nova ciência dentro da biotecnologia.

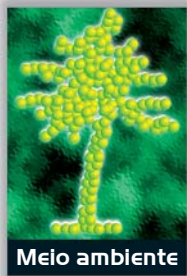
O domínio da biotecnologia tem levado algumas pessoas a pensar que os cientistas estão “brincando de ser Deus” ao desenvolverem novas variedades. A modificação genética das espécies, tornando-as mais úteis ao homem, não é uma prática dos tempos modernos. A inteligência humana vem sendo utilizada para modificar geneticamente as espécies desde a mais remota antiguidade. Naquela época, o homem utilizava os conhecimentos pré-mendelianos. Hoje utiliza todo o conhecimento gerado ao longo da história. Essa é a tendência natural da evolução do conhecimento científico.

No período em que a biotecnologia dava seus primeiros passos, os meios de comunicação devotaram-lhe exagerada atenção. O interesse pelo assunto cresceu de forma inacreditável, e tanto pessoas informadas quanto leigas passaram a especular sobre as aplicações da biotecnologia, gerando expectativas que não se concretizaram no tempo previsto.

Após alguns anos de investimento em pesquisas biotecnológicas, as variedades transgênicas tornaram-se comercialmente disponíveis. Seus benefícios no aumento da produção de alimentos e na redução do uso de defensivos agrícolas já podem ser avaliados.

Bibliografia

- Alcamo, E. 1999. DNA technology: the awesome skill. New York: Harcourt Academic Press. 348 p.
- Borém, A. 2005. Biotecnologia e meio ambiente. Viçosa, MG: UFV. 1. ed. 425 p.
- Borém, A. 1999. Melhoramento de espécies cultivadas. 1. ed. Viçosa, MG: UFV.
- Borém, A. 2001. Escape gênico e transgênicos. Visconde do Rio Branco, MG: Editora Suprema. 206 p.
- Borém, A. 2001. Melhoramento de plantas. Viçosa, MG: UFV. 3. ed. 500 p.
- Borém, A. e Santos, F.R. 2002. Biotecnologia simplificada. Visconde do Rio Branco, MG: Editora: Suprema. 249 p.
- Costa, N.M.B. e Borém, A. 2003. Biotecnologia e nutrição. São Paulo: Editora Nobel. 214 p.
- Canadian Food Information Council. 2002. Articles on agri-food biotechnology: (1) What about antibiotic resistance marker genes? (2) What about food safety and allergens? (3) What about substantial equivalence?
- Drlica, K. 1996. Understanding DNA and gene cloning: a guide for the curious. 3. ed. New York: John Wiley & Sons. 323 p.
- International Food Biotechnology Council. 1996. Allergenicity of foods produced by genetic modification In: E. Clydesdale (ed.). Critical Reviews in Food Science and Nutrition. v. 36. New York: CRC Press.
- International Food Information Council. 1997. Food allergy myths and realities. <http://www.ificinfo.health.orh/insight/novdec97/foodallergy.htm>
- Lewin, B. 1999. Genes VII. Oxford: Oxford Univ Press. 847 p.
- Messina, L. 2000. Biotecnology. New York: Wilson, H.W. 186 p.
- Perelman, C. 1999. Ética e direito. São Paulo: Editora Martins Fontes. 322 p.
- Varella, M.D., Fontes, E. e Rocha, F.G. 1999. Biossegurança e biodiversidade – Contexto científico e regulamentar. Belo Horizonte: Editora Del Rey. 301 p.
- Watson, J.D., Gilman, M. e Witkowski, J. 1992. Recombinant DNA. 2. ed. New York: W H Freeman & Co. Press. 626 p.



BIOINDICADORES PARA UMA ANÁLISE DE RISCO AMBIENTAL

Organismos geneticamente modificados e grupos funcionais de microrganismos do solo

Galdino Andrade

*Biólogo, Doutor, Professor da Universidade Estadual de Londrina, CCB, Departamento de Microbiologia, Laboratório de Ecologia Microbiana, Londrina, PR.
andradeg@uel.br*

Marco Antonio Nogueira

Engenheiro-Agrônomo, Doutor, Professor da Universidade Estadual de Londrina

Imagens cedidas pelos autores

1. Introdução

A necessidade de alimentar a população mundial em crescente aumento faz com que novas tecnologias e técnicas de cultivo sejam empregadas, muitas das quais eram utópicas para o homem há não mais que duas décadas. Nesse cenário estão as plantas e microrganismos geneticamente modificados, ou simplesmente organismos geneticamente modificados (OGMs). Se por um lado seus defensores vislumbram uma forma de produção agrícola e defesa das culturas quanto a pragas, doenças e plantas concorrentes de uma forma totalmente inédita, por outro, muito pouco se sabe sobre seus efeitos em longo prazo no ambiente. Os possíveis riscos ambientais em decorrência de seus (possíveis?) efeitos colaterais, somente as pesquisas poderão responder. Afirmações calorosas pró ou contra, sem embasamento científico, são apenas especulações que não contribuem em nenhum sentido para o desafio da produção de alimentos para uma população cada vez maior, num planeta cada vez mais escasso de recursos naturais que precisam ser conservados.

O desenvolvimento e o uso de plantas geneticamente modificadas (PGMs) é polêmico e o debate público é intenso. O uso de PGMs na produção agrícola pode ter um grande potencial para a melhora dos níveis nutricionais dos alimentos ou na proteção do solo devido à produção de maior quantidade de matéria orgânica, de ácidos orgânicos na

rizosfera, que podem melhorar as qualidades físicas, químicas e biológicas do solo, bem como promover a obtenção mais eficiente de nutrientes do solo pelas raízes das plantas. Neste artigo será abordado o efeito que as PGMs podem ter sobre as comunidades microbianas do solo e o meio ambiente.

2. O Solo

Quando se fala em meio ambiente, é impossível dissociar os ambientes terrestres do solo e dos organismos que nele habitam. Os processos pedogenéticos envolvem complexas interações físicas, químicas e biológicas que dependem do material de origem, da topografia, do clima e da ação de organismos vivos. Os primeiros organismos habitantes do solo em formação são as algas, que além de realizarem fotossíntese também fixam nitrogênio atmosférico. Quanto associadas a determinados fungos formam os líquens, os quais constituem as primeiras fontes de carbono orgânico e de nitrogênio no solo em formação, o que possibilita o estabelecimento de outros microrganismos e plantas (Figura 1). O estabelecimento de outros microrganismos, incrementa a produção de CO_2 , o qual é convertido em ácido carbônico (H_2CO_3) e atua na dissolução dos minerais, contribuindo ainda mais para a formação do solo. Além disso, muitos microrganismos produzem ácidos orgânicos, que também atuam nesse processo.

Além de ser a base de sustentação física para as plantas, o solo é a fonte dos nutrientes essenciais para



Figura 1. Líquens colonizando um afloramento de rocha, propiciando o estabelecimento de outros (micro)organismos que atuarão nas etapas iniciais de formação do solo

o desenvolvimento vegetal. Com o estabelecimento dos vegetais superiores nesse ambiente, surge uma importante zona ao redor de suas raízes, a rizosfera, a qual será abordada mais detalhadamente neste artigo. Nessa complexa interação entre vegetais, animais e minerais, os microrganismos desempenham um papel essencial no funcionamento dos ecossistemas pelo seu papel fundamental nos ciclos biogeoquímicos, que compreendem a ciclagem de nutrientes e do carbono.

A fração orgânica do solo, composta por restos vegetais, animais e microbianos em diversos estágios de decomposição e síntese microbiana, é chamada húmus, a porção estável

da matéria orgânica do solo. Ele é o reservatório de energia para microrganismos e nutrientes para plantas e microrganismos, além de desempenhar importante papel na estabilidade de agregados do solo e retenção de água. Além disso, água e gases também ocupam a porção porosa do solo. A interação entre esses fatores físicos e químicos resulta na diversidade de habitats que se formam no solo, o que determina a composição e a atividade da comunidade microbiana do solo num determinado local e tempo.

Depois da rizosfera, os locais de maior atividade microbiana são as superfícies das partículas de solo e os microporos, formando diversos

microhabitats. Mesmo um único microagregado de solo pode apresentar diversos microambientes e, conseqüentemente, hospedar uma gama diversificada de microrganismos (Figura 2). As condições físico-químicas em um microhabitat podem mudar rapidamente no tempo e no espaço; a concentração de O_2 representada na Figura 2 é apenas uma representação instantânea e pode mudar drasticamente em função da atividade microbiana e da umidade do solo.

Raízes de plantas, microrganismos e animais que compõem a comunidade biológica do solo produzem enzimas intra e extracelulares que têm grande participação nos ciclos biogeoquímicos. Essas enzimas podem continuar ativas por longo tempo após terem sido liberadas no solo, desempenhando sua atividade de acordo com sua especificidade. A razão pela longa viabilidade no ambiente reside no fato de que essas enzimas interagem com as superfícies carregadas dos colóides do solo, orgânicos e minerais, onde permanecem protegidas da ação de proteases, mas ainda mantém sua capacidade catalítica.

2.1 OGMs e comunidade microbiana do solo

As alterações genéticas de plantas representam uma das áreas de mais rápido desenvolvimento

Tabela 1. Métodos de detecção de microrganismos geneticamente modificados após sua liberação no solo.

Métodos in situ	Métodos extrativos	
	Deteção celular	Deteção genética
- Microscopia direta (imunofluorescência, outras colorações específicas, bioluminescência)	- Contagem em placas - Estimativa pelo número mais provável - Métodos imunológicos - Citometria de fluxo - Concentração de afinidade - Técnicas baseadas em luminescência	- Amplificação de genes por PCR - Seqüenciamento e mapeamento de genes - Análises de RNA

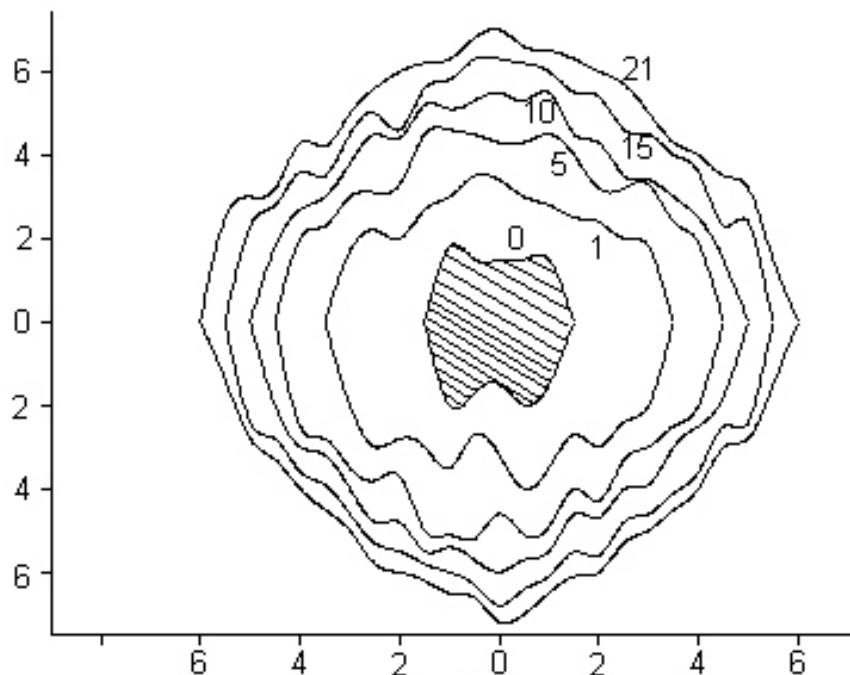


Figura 2. Diagrama ilustrando as concentrações (%) de O_2 ao redor de uma partícula de solo. Em termos de exigências de O_2 para diversos grupos microbianos, pode-se dizer que cada região delimitada por uma isolinha representa um microhabitat.

dentro da biotecnologia. Essas alterações têm vários objetivos, tais como o aumento da resistência de plantas a fungos, vírus, insetos, congelamento, herbicidas e mesmo para aumentar a eficiência fotossintética das plantas com conseqüente aumento da quantidade de CO_2 fixado. Não é difícil concluir que qualquer modificação genética que altere a fisiologia da planta também alterará a comunidade microbiana no solo em que essa planta for cultivada, visto que, em última análise, os microrganismos heterotróficos do solo têm sua atividade dependente dos produtores primários de substrato para obtenção de energia, as plantas. Essa alteração deverá ser mais evidente na rizosfera, mas também deverá ser percebida nos demais microhabitats do solo.

Além das alterações genéticas de plantas, também existe potencial de uso dessa tecnologia em microrganismos, principalmente simbioses ou promotores de crescimento de plantas. A introdução de uma planta geneticamente modificada no ambi-

ente pode ser menos problemática que a introdução de um microrganismo, pois estes quando introduzidos ao solo e sendo estranhos àquele ambiente, precisam ser hábeis em competir com os microrganismos nativos por nichos específicos. Por outro lado, qualquer risco associado a organismos geneticamente modificados no ambiente são mais previsíveis e mais facilmente controláveis quando se empregam plantas em comparação com microrganismos, porque o gene do microrganismo engenheirado pode ser transferido para outros grupos microbianos do solo por meio de recombinação genética.

No caso de microrganismos simbioses como os rizóbios, seja qual for o mecanismo de alteração genética, o objetivo final é o aumento dos níveis de produtividade da cultura a se beneficiar da interação microbiana, quer seja por meio do aumento da eficiência do simbiote na associação com a planta ou pelo aumento de sua competitividade no solo. Esse último caso pode ser al-

cançado pela manipulação genética do próprio rizóbio ou ainda por uma estratégia indireta de co-inoculação do rizóbio com bactérias produtoras de antibióticos para aumentar a colonização e a nodulação das leguminosas. No caso de introdução de genes de resistência a antibióticos, bem como a co-inoculação com bactérias já resistentes, é possível que haja efeitos sobre a comunidade microbiana do solo, já que as bactérias modificadas terão um mecanismo a mais para competir por um nicho com os microrganismos nativos. Caso esses microrganismos nativos desempenhem um papel importante nos ciclos biogeoquímicos, este poderá deixar de ocorrer em sua plenitude, comprometendo a funcionalidade daquele ecossistema.

O desenvolvimento biotecnológico de plantas e microrganismos geneticamente modificados, embora possa trazer muitos benefícios para a agricultura ou para outras aplicações, como a biorremediação, pode ter efeitos ambientais adversos. Todos esses possíveis efeitos devem ser avaliados, de preferência em condições controladas, antes que seja feita qualquer introdução desses organismos no ambiente.

2.2 Estratégias de monitoramento dos efeitos de OGMs no ambiente

Os efeitos de plantas e microrganismos geneticamente modificados no ambiente podem ser monitorados por meio de várias estratégias, cada qual dependendo do gene inserido e do organismo envolvido. A competição (persistência e invasão de comunidades indígenas), patogenicidade e toxicidade a organismos não-alvo, transferência de genes a organismos indígenas e a dispersão para além do ambiente alvo, devem ser avaliados em condições controladas antes que se faça o uso desses organismos modificados em ambiente aberto. As técnicas necessárias para se fazer tais avaliações são bem definidas no caso de plantas em comparação a microrganismos. A avaliação de determinados grupos microbianos que desempenham funções específicas no solo, os chama-



Figura 3. Rizosfera. Os microrganismos crescem ao redor da raiz (Ra) formando a rizosfera (Ri).

dos grupos funcionais, pode ser uma ferramenta útil para avaliar o efeito de organismos geneticamente modificados no ambiente solo, visto que esses grupos são bastante sensíveis a alterações ambientais, podendo ser utilizados como indicadores. Os grupos funcionais de microrganismos do solo serão abordados com mais detalhes neste artigo.

A detecção e monitoramento de microrganismos geneticamente modificados no solo podem ser feitos por técnicas que envolvem extração ou ainda *in situ* (Tabela 1).

As técnicas ideais de detecção e monitoramento de organismos geneticamente modificados seriam aquelas que pudessem identificar uma única célula *in situ*, avaliar sua atividade e facilitar o rastreamento do gene em questão. Uma estratégia utilizada envolve a clonagem de genes *lux* provenientes de vibriões

marinhos em organismos carregando algum gene estranho de interesse. Dessa forma, poder-se-á obter a imagem da célula modificada, bem como a sua atividade metabólica, que será proporcional à bioluminescência catalisada pela enzima luciferase. O marcador envolvendo bioluminescência tem a vantagem de não trazer consigo preocupações ambientais adicionais associadas aos marcadores para resistência a antibióticos, utilizados em muitas situações.

2.3 OGMs no ambiente

A sobrevivência e dispersão de microrganismos geneticamente modificados dependerão da sua interação com a biota nativa do solo (plantas, microrganismos e animais) bem como com as características físico-químicas do solo em questão. Microrganismos exógenos, quando adicionados ao solo, geralmente têm

baixa sobrevivência devido à sua incapacidade de habitar um ambiente distinto, ou ainda competir com os microrganismos nativos, já adaptados àquele ambiente. Por exemplo, se um microrganismo geneticamente modificado é introduzido num solo úmido, as células se localizarão predominantemente na solução do solo. Nessas condições, essas células serão alvo fácil para protozoários que se alimentam de bactérias, diminuindo rapidamente o número de células das bactérias recém introduzidas. No que se refere à dispersão de microrganismos, o potencial de água no solo desempenha importante papel, pois a maior parte do movimento de células microbianas está restrita a períodos após ocorrência de chuvas ou irrigação, quando a maior parte dos macroporos do solo está cheia de água, que se movimenta por drenagem ao longo do perfil ou mesmo por movimento lateral, caso haja um gradiente de potencial de água no solo em determinado sentido. Outro fator que pode colaborar na dispersão de microrganismos geneticamente modificados no solo é a ação de minhocas e protozoários, ingerindo microrganismos num ponto e evacuando em outro.

Alguns autores defendem que a liberação de microrganismos geneticamente modificados no ambiente não afetaria a integridade funcional do solo, uma vez que as diferenças entre os microrganismos selvagens e os modificados são muito sutis: apenas um ou dois genes são inseridos ou deletados entre milhares, a não ser nos casos em que a patogenicidade do microrganismo seja alterada. Assim como os efeitos de pesticidas e outros químicos sobre processos e integridade funcional do solo são avaliados, o mesmo deve ser feito para os organismos geneticamente modificados e para isso os bioindicadores com alta sensibilidade deverão ser empregados. Entre eles, podem ser citados os grupos funcionais de microrganismos do solo envolvidos nos ciclos do carbono, nitrogênio e fósforo.

Uma estratégia para minimizar os efeitos da introdução de micror-

ganismos geneticamente modificados no solo pode ser a limitação de sua persistência por meio da inserção de genes suicidas, os quais são acionados sob determinada situação ambiental, levando as células que os contém à morte. Entretanto, há que se considerar a questão da recombinação genética entre microrganismos, os quais podem incorporar fragmentos de DNA das células mortas.

3. Rizosfera

A maior parte da atividade microbiana do solo está localizada principalmente em uma zona do solo que está em íntimo contato com a superfície das raízes que é chamada de rizosfera (Figura 3). Nesta zona ocorrem inúmeros processos de interação entre os diferentes grupos de macro e microrganismos e a planta.

Como pode ser visto na Figura 3,

uma comunidade microbiana se estabelece ao redor das raízes até onde a concentração de nutrientes liberada pelos exsudatos e lisatos radiculares é suficiente para suportar seu crescimento. A rizosfera é uma fronteira ainda inexplorada para a engenharia genética. Os processos que ocorrem nesta zona do solo influenciam a incidência de doenças das plantas e a sua nutrição, por sua vez, as raízes influenciam a dinâmica e a composição das comunidades microbianas qualitativa e quantitativamente.

Por estas razões, os microrganismos rizosféricos são excelentes bio-indicadores para avaliar qualquer alteração benéfica ou maléfica que possa ocorrer no solo. As PGMs devido à introdução de novos genes podem expressar proteínas ou produtos do metabolismo que seguramente serão liberados pelos exsudatos ou lisatos radiculares; o

efeito benéfico ou maléfico destes produtos no meio ambiente pode ser avaliado pelas alterações que ocorrem nas comunidades microbianas que vivem na rizosfera (Figura 4).

Por outro lado, as PGMs podem também alterar qualitativamente microrganismos benéficos da rizosfera, resultado da composição dos seus exsudatos. Uma PGM poderia ter maior resistência a fitopatógenos ou pragas por conter nos seus exsudatos compostos que estimulam populações de microrganismos antagonistas destes patógenos ou pragas. Também poderiam ser estimulados outros grupos de microrganismos que participam ativamente da nutrição das plantas como as bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares (MA)

4. Grupos funcionais de microrganismos

A ecologia do solo tem muito para contribuir na compreensão dos importantes processos que ocorrem em diferentes níveis do ecossistema que afetam o crescimento da planta tais como a microbiota da rizosfera, a dinâmica da matéria orgânica, a ciclagem de nutrientes e a estrutura do solo. A proposta é discutir o papel dos grupos funcionais de microrganismos que vivem na rizosfera e participam da ciclagem de nutrientes e sua importância como bio-indicadores da saúde do solo ou de distúrbios que podem ocorrer devido à ação antrópica.

Muitos destes grupos atuam diretamente na nutrição da planta, como os rizóbios e os fungos micorrízicos que são microrganismos simbióticos. Nas décadas anteriores, estes grupos foram estudados extensivamente, mas muito pouco foi feito com relação às interações com outros grupos de microrganismos funcionais, esquecendo-se que no sistema rizosférico existem muitas outras interações que possuem grande importância ecológica para a manutenção da vida no planeta e conseqüentemente no solo, já que este é parte de um todo.

Muitas etapas da ciclagem de

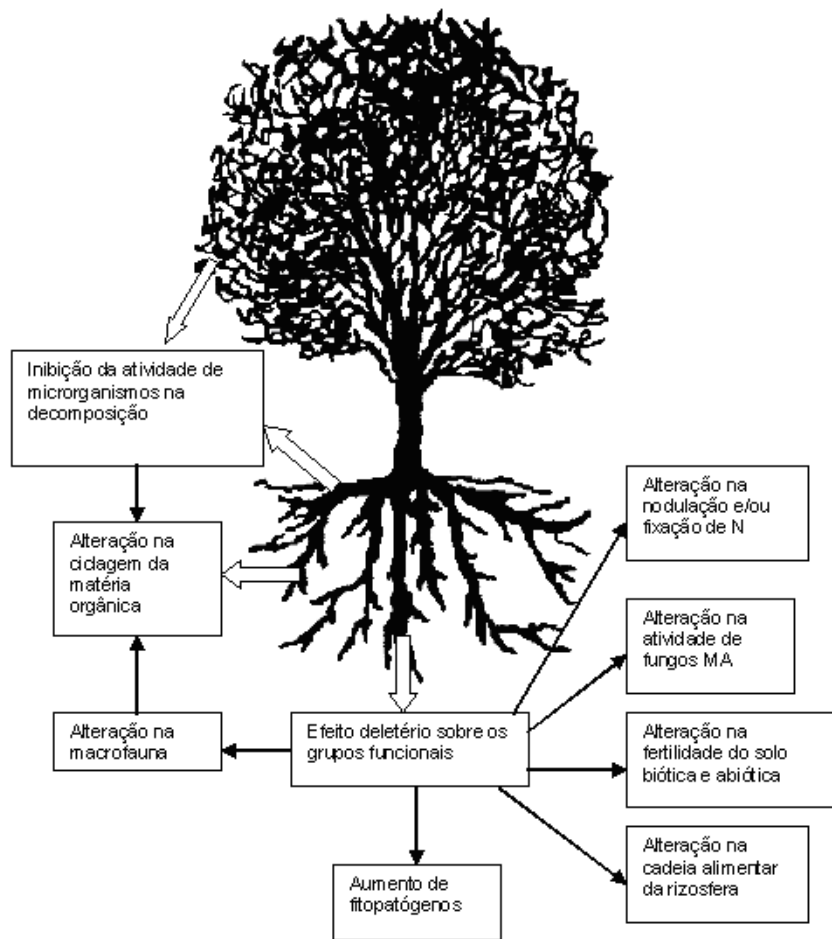


Figura 4. Possíveis alterações que as PGMs podem causar na comunidade microbiana da rizosfera.

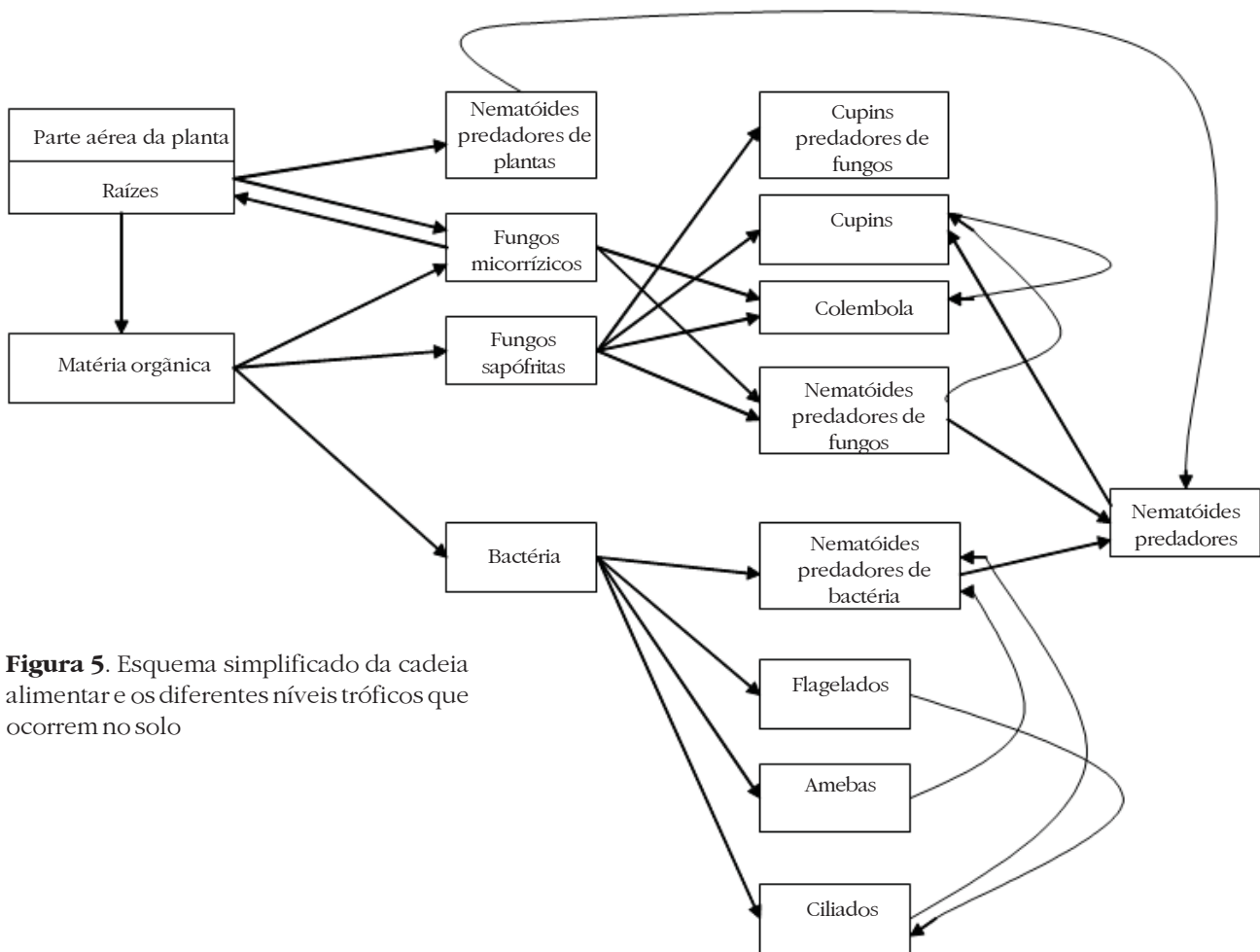


Figura 5. Esquema simplificado da cadeia alimentar e os diferentes níveis tróficos que ocorrem no solo

nutrientes são realizadas exclusivamente por microrganismos, sendo que alguns podem participar de um ou mais ciclos biogeoquímicos. A compreensão das interações entre diferentes populações de acordo com fenótipos específicos pode nos dar uma maior visão dos processos que estão ocorrendo no solo. Agrupar as comunidades microbianas por fenótipos é mais realístico do que determinar as espécies que estão envolvidas nos processos. É certo

que somente uma pequena porcentagem da comunidade microbiana é capaz de crescer em meio de cultura, mas mesmo assim se considerarmos que temos uma amostra da comunidade microbiana, podemos obter dados de qualidade para o monitoramento dos efeitos de produtos químicos ou biológicos e seu impacto ambiental e os eventuais efeitos na ciclagem de nutrientes e na fertilidade do solo.

Os aspectos da funcionalidade

de são muito mais importantes do que a biodiversidade nos sistemas naturais e agrícolas. Algumas questões podem ser levantadas com relação à biodiversidade. A primeira pergunta que devemos fazer é: O que é mais importante para o ecossistema: o número de espécies que compõe um grupo funcional ou o potencial de transformação que possui este grupo? Por outro lado, algumas questões podem ser levantadas como: Dentro da dinâmica biológica o que representa uma espécie no sistema? Qual é a importância que uma espécie pode ter na ciclagem de nutrientes? Estas perguntas podem nos levar a concluir que precisamos começar a rever nossa visão em relação ao microcosmo do solo. Devemos ampliar a compreensão dos processos biológicos que ocorrem no sistema solo-planta, assumindo estes processos como um todo, e cada grupo funcional como uma fração deste todo. Somente as-

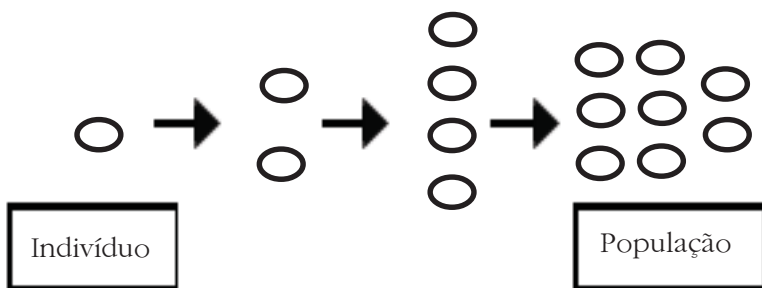


Figura 6. A partir de uma célula é formada uma população

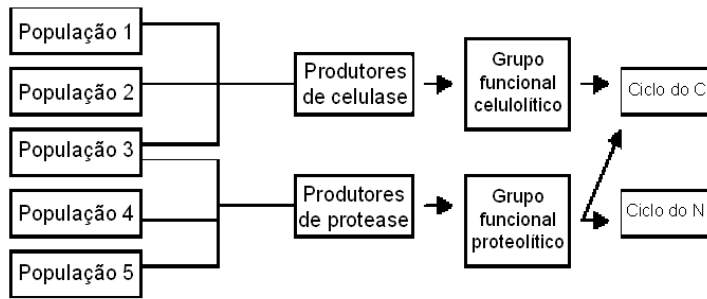


Figura 7. Várias populações de microrganismos podem participar de um ou mais ciclos biogeoquímicos

sim, vamos poder determinar o impacto ambiental ou a influência das PGMs sobre as comunidades de microrganismos do solo, não apenas sobre um grupo funcional. É também necessário fazer uma avaliação dos diversos grupos funcionais que participam de diferentes etapas dos ciclos biogeoquímicos do carbono, fósforo, enxofre e nitrogênio, bus-

cando as correlações entre eles.

Os grupos funcionais também estão diretamente relacionados com a cadeia alimentar do solo (Figura 5), que é mantida pelo equilíbrio da interações entre a parte biótica (microrganismos, macrorganismos e planta) e abiótica (solo e água) do solo. Estas interações entre os diferentes níveis tróficos são responsáveis em

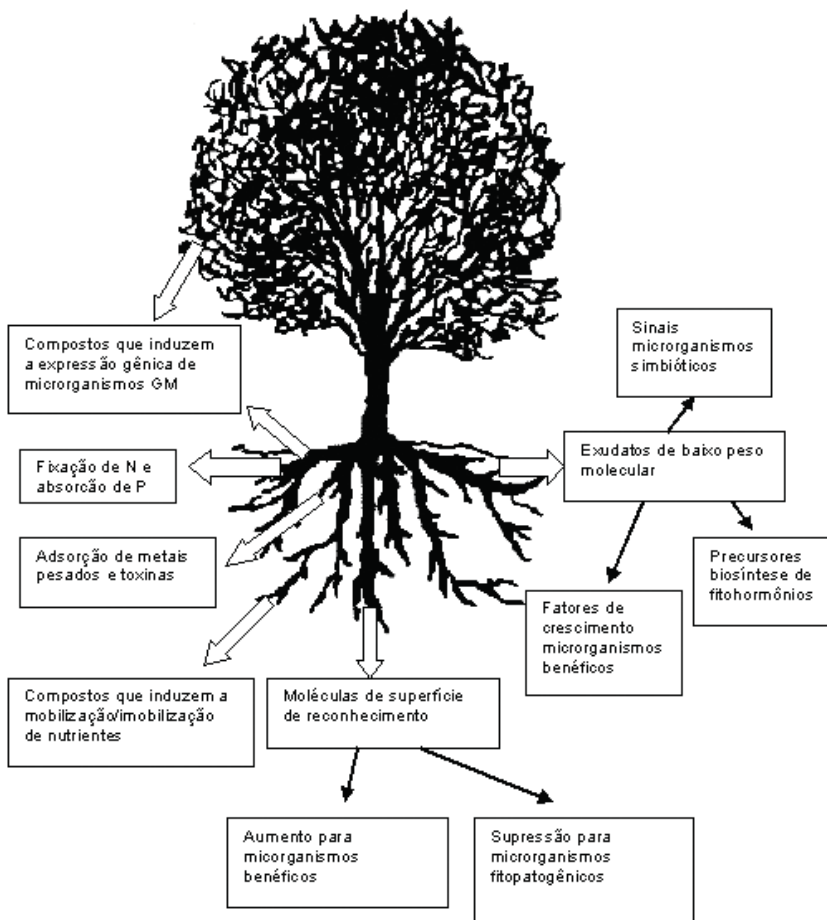


Figura 8. A partir da introdução de novos genes, as PGMs poderiam ter uma rizosfera engenheirada capaz de mediar as interações microrbianas que beneficiariam o meio ambiente, a nutrição e a saúde da planta

grande parte pela sustentabilidade do ecossistema.

A cadeia alimentar pode sofrer grandes variações tanto positivas como negativas sob a influência das PGMs. Qualquer população que for afetada pode desequilibrar todo o sistema. Em relação à biodiversidade da microbiota, esta é importante para outros objetivos, como na busca de produtos específicos com uso potencial na indústria. A importância no meio ambiente ainda deve ser investigada, já que as técnicas moleculares utilizadas atualmente não nos permitem avaliar os mecanismos de interação microbiana no microcosmo do solo.

No solo, uma única célula dá origem a uma população (Figura 6). Populações metabolicamente semelhantes formam grupos chamados de funcionais, e esses grupos funcionais, desempenhando processos fisiológicos complementares e interagem para formar comunidades microbianas. Por sua vez, essas comunidades microbianas interagem com comunidades de macrorganismos, para definir o ecossistema em sua plenitude.

Podemos definir grupos funcionais como um grupo de populações de microrganismos que participa de um mesmo processo de transformação de um dado nutriente no solo, sendo que uma mesma população de microrganismo pode participar de uma etapa de um ou mais ciclos biogeoquímicos (Figura 7). Como exemplo, podemos citar o grupo funcional de microrganismos celulolíticos. Ao inocular uma suspensão de solo em uma placa de Petri com meio seletivo para microrganismos celulolíticos, em que a única fonte de carbono é a celulose, serão observadas várias colônias formadoras de halo de degradação compostas por várias espécies de fungos, actinomicetos e bactérias, geralmente nessa ordem numérica decrescente.

A biodiversidade dos fungos, actinomicetos e bactérias que formam este grupo funcional são parâmetros secundários, quando o objeto de estudo é avaliar a funcionalidade do ciclo biogeoquímico.

Tabela 2. Efeito de diversas PGMs na comunidade microbiana do solo (Kowalchuk et al., 2003)

PGM	Modificação	Efeito
Alfafa	Glucanase ácida (Aglu 1) e quitinase básica de arroz (RCH 10)	Não apresentou efeitos na nodulação e não foi deletério para os fungos fitopatogênicos <i>Stemphylium alfalfae</i> ou <i>Colleotrichum trifolii</i>
Alfafa	α -amilase	Modificou a comunidade de bactérias na raiz
Algodão	Produção da endotoxina do <i>Bacillus thuringiensis</i> var <i>kurstaki</i>	Aumentou a população de bactérias e fungos
Batata	Produção de lisozima T4	Diminui a população de <i>Bacillus subtilis</i> nos pêlos radiculares; não influencia a microbiota da rizosfera; não foi observado efeito em bactérias associadas à raiz
Batata	<i>Barnase/Barnstar</i> e gene <i>gus</i>	Efeitos na interação espaço x tempo sobre a composição da comunidade microbiana
Beterraba açucareira	Resistência a kanamicina e ao glifosinato de amônia	O DNA transgênico foi encontrado por vários meses no solo no campo
Canola	Tolerância ao glufosinato de amônia e ao glifosate	Baixo efeito nas comunidades microbianas; Perfis fenotípicos avaliados pelo FAME e Biolog de microrganismos endofíticos e rizosféricos foram diferentes da variedade não OGM; Diminuiu a diversidade de bactérias endofíticas nas raízes
<i>Medicago truncatula</i>	<i>Agrobacterium rhizogenes</i> transformado Gus A e npt II	Raízes transformadas tiveram boa nodulação com <i>Sinorhizobium meliloti</i> e boa colonização com micorriza arbuscular (MA) <i>Glomus intraradices</i>
Milho	Produção endotoxina (Cry1 Ab) de <i>B. thuringiensis</i> var <i>kurstaki</i>	Lignina da PGM foi degradada mais rapidamente e a população de bactérias nas fezes de <i>Porcellio scaber</i> alimentado com milho Bt era 60% menor do que nas fezes de <i>P. scaber</i> alimentado com milho híbrido; Não foi observado efeito deletério nas populações de minhoca, nematóides, protozoários, bactérias e fungos
Milho	Gene Pat para resistência ao glufosinato	Não foi observado efeito deletério na diversidade ou composição das comunidades microbianas na rizosfera
Tabaco	Quitinase	Efeito deletério sobre os fungos micorrízicos arbusculares
Tabaco	Expressão de proteínas anti-fúngicas	Não afetou a colonização das raízes por fungo MA <i>G. mosseae</i>
Tabaco	Biossíntese de lignina	A lignina de PGM foi decomposta mais rapidamente
Tabaco	Inibidor de proteinase	Diminuiu a população de nematóide, e microartrópodos, não teve efeito na respiração microbiana

5. A rizosfera de uma planta geneticamente modificada

Como foi visto até o momento, os microrganismos também atuam na ciclagem de nutrientes e consequentemente na nutrição e saúde das plantas. Quando a comunidade microbiana na rizosfera das plan-

tas está em equilíbrio, os grupos de microrganismos interagindo entre si participam em seu potencial máximo na nutrição e proteção da planta e na saúde do solo. Entretanto, esse equilíbrio pode ser rompido, principalmente nos sistemas agrícolas intensivos, devido a vários fatores que não serão abortados aqui.

Desde que Cohen & Boyer inici-

aram a era da modificação genética nos anos 70, a idéia do uso de organismos geneticamente modificados é cercada de expectativas e apreensões. A primeira planta modificada foi obtida há mais de 15 anos, e desde o início inúmeras técnicas têm sido desenvolvidas para a introdução de vários genes em um grande número de plantas. A maioria das plan-

tas geneticamente produzida até o momento é produtora de alimentos (milho, soja, batata, canola e arroz) e de plantas não alimentícias (algodão, plantas ornamentais, tabaco). No entanto, estas modificações genéticas visam diretamente a proteção da planta ou a melhora do processo de cultivo. Até o momento, muitos críticos das PGMs as vêem como contaminantes em potencial do meio ambiente devido aos novos produtos metabólicos por elas produzidos. É verdade que a liberação destas plantas deve ser feita após criteriosa avaliação de risco ao meio ambiente, à saúde animal e humana, mas não se pode desprezar o potencial que existe nesta tecnologia para melhorar a prática agrícola em vários aspectos.

No solo, os efeitos das plantas engenheiradas são muito pouco estudados, apesar de ser grande o conhecimento da importância de vários grupos de microrganismos para a nutrição e proteção da planta e também na ciclagem de nutrientes. Os microrganismos são responsáveis pela maioria da biomassa, excluindo as raízes, e pela atividade metabólica (respiração), além de participarem ativamente dos ciclos biogeoquímicos e na ciclagem da matéria orgânica.

PGMs influenciam a micro e microbiota na rizosfera e certamente os novos produtos metabólicos produzidos devido à introdução de novos genes vão influenciar a comunidade microbiana da rizosfera. Neste sentido, o importante é determinar se o efeito é positivo ou negativo e dimensionar quanto estes produtos influenciam. Apesar de serem poucos os experimentos realizados até o momento, é grande o impacto dessas plantas na microbiota do solo que consome os novos produtos metabólicos liberados pelas PGMs. Kowalchuk et al. (2003), em uma revisão, descreve os efeitos das PGMs na microbiota do solo. Como pode ser observado na Tabela 2, os estudos de impacto têm resultados muito variáveis, cada planta e cada gene introduzido tem diferentes efeitos na comunidade microbiana da

rizosfera.

Uma estratégia interessante que possa influenciar de forma positiva os grupos funcionais de microrganismos na rizosfera é a produção de PGMs com a rizosfera engenheirada para selecionar microrganismos benéficos na sua rizosfera, alterando assim sua função para benefício do meio ambiente, da nutrição e saúde da planta (Figura 8). Métodos clássicos e de biologia molecular ainda não permitem um profundo estudo de monitoramento da rizosfera. No entanto, várias propostas neste sentido têm surgido, aumentando o interesse pelo estudo da biologia das raízes, da rizosfera e das interações entre rizosfera e microrganismos.

Engenheirar a rizosfera requer novas técnicas para introduzir e regular a expressão de novos genes, assim como compreender a expressão dos genes nos tecidos radiculares e de promotores que regulam as células em tecidos específicos da raiz. A camada mais externa de células da raiz poderia ser um alvo a ser engenheirado, pois está em contato direto com o solo e influencia diretamente na rizosfera. Esta camada é bastante promissora para a modificação genética porque é formada por um tipo de tecido diferente das demais partes da planta, expressa um único complemento de genes e se mostra adaptada a mediar os processos da rizosfera. Tais PGMs, por exemplo, poderiam ser alteradas para apresentar mais sítios específicos para microrganismos simbiotes tais como fungo MA e rizóbios, ou ainda serem mais eficientes em absorver P e/ou fixarem N por si próprias. Também poderiam produzir e excretar através dos seus exsudatos fatores de crescimento que estimulariam grupos funcionais de microrganismos que atuam em etapas chave dos diferentes ciclos biogeoquímicos.

A produção e liberação de sinais químicos para a expressão de genes introduzidos em microrganismos GM a serem disseminados no solo também poderia ser uma excelente ferramenta para o controle da expressão desses genes, os quais poderiam ser ativados em diferentes etapas do

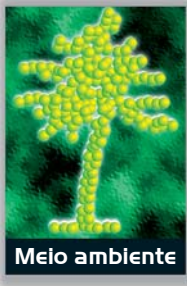
crescimento da planta, conforme a conveniência.

6. Considerações finais

Os efeitos dos OGM no ambiente e mais especificamente sobre a comunidade microbiana do solo ainda são pouco conhecidos, de modo que os potenciais riscos e impactos ambientais somente poderão ser conhecidos após uma avaliação criteriosa desses novos genes e seus produtos no ambiente. Por outro lado, o potencial desta tecnologia pode fazer com que as plantas tenham papel importante na revitalização da microbiota do solo, recuperando assim a fertilidade e suas propriedades físico-químicas, tornando a agricultura uma atividade menos impactante do meio ambiente. É claro que, mesmo tendo genes que possam beneficiar o meio ambiente, estas plantas e eventuais microrganismos devem obrigatoriamente ser avaliados quanto ao impacto que possam causar à funcionalidade do ecossistema.

Referências

- Borém, A. *Biotecnologia e Meio Ambiente*. Viçosa: UFV, 2004. 325 p.
- Callaway, R.M.; Thelen, G.C.; Rodriguez, A.; Holben, W.E. Soil biota and exotic plant invasion. *Nature*, 427:731-733, 2004.
- Kowalchuk, G.A.; Bruinsma, M.; van Veen, J.A. Assessing responses of soil microorganisms to GM plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 18:403-410, 2003.
- O'Connell, K. P.; Goodman, R.M.; Handelsman, J. Engineering the rhizosphere: expressing a bias. *Trends in Biotechnology*, 14:83-88, 1996.
- Phillips, D.A.; Streit, W.R. Modifying rhizosphere microbial communities to enhance nutrient availability in cropping systems. *Field Crops Research*, 56:217-221, 1998.
- Rengel, Z. Genetic control of root exudation. *Plant and Soil*, 245:59-70, 2002.
- Varma, A.; Abbott, L.; Werner, D.; Hampp, R. (Eds.) *Plant Surface Microbiology*. Berlin: Springer, 2004. 628 p.



IMPACTO DA BIOTECNOLOGIA NA BIODIVERSIDADE

Saiba como a biotecnologia pode contribuir para a conservação da biodiversidade

Aluizio Borém

Eng. Agrônomo, M.S., Ph.D. e Professor da
Universidade Federal de Viçosa
borem@ufv.br

Imagens cedidas pelos autores

Biodiversidade

Biodiversidade pode ser definida como o conjunto de todos os seres vivos em um ecossistema, em uma região ou em toda a Terra.

O valor intrínseco das espécies e dos ecossistemas vai além de seu valor como matéria-prima para o desenvolvimento dos produtos. A biodiversidade possui valor econômico, social, recreativo, cultural e estético. A biodiversidade hoje existente é o resultado da evolução durante 3,5 bilhões de anos, período em que as espécies surgiram, muitas delas hoje não encontradas na face da terra. Os dinossauros não são os únicos seres vivos que desapareceram da Terra.

Existem estimativas de que a maioria das espécies que já existiram desapareceram, evidenciando a natureza dinâmica da biodiversidade. Em longo prazo, os ecossistemas nunca foram estáticos. Eles sempre experimentam alterações com espécies novas surgindo e outras sendo extintas. Essas oscilações são muito lentas e graduais quando comparadas ao tempo de vida do homem. Certamente, hoje, com o crescimento populacional e sua interferência nos ecossistemas, as alterações e o desequilíbrio são muitos maiores que em quaisquer outras épocas da existência da Terra.

Além da biodiversidade silvestre, existe a biodiversidade explorada nos sistemas silvo-agropastoris. Na agricultura, cerca de 7.000 espécies vegetais são utilizadas pelos agricultores. Entretanto, 30 espécies

respondem por 90% da dieta do homem (Ammann, 2003). Dentro dessas poucas 30 espécies existem milhares de biótipos (linhagens, variedades crioulas, nativas, melhoradas, estoques genéticos etc.) adaptados a diferentes condições edafo-climáticas, práticas agrícolas etc. Entretanto, a variabilidade genética presente nas variedades cultivadas, em geral, é relativamente limitada, uma vez que a maioria delas descende de um pequeno grupo de genitores. As três principais espécies agrônômicas, trigo, milho e arroz, produzem individualmente cerca de 500 milhões de toneladas por ano. O melhoramento genético dessas espécies resultou em variedades aparentadas entre si. Adicionalmente, a distância genética entre essas variedades e a maioria dos acessos dos bancos de germoplasma é muito grande, limitando sua utilidade para a introgressão de nova variabilidade. A biotecnologia possui grande potencial para expandir a base genética das variedades atualmente cultivadas e para a transferência de características importantes dos acessos dos bancos de germoplasma para as modernas variedades, sem o arraste de genes de características indesejáveis (Borém, 2001).

Convenção sobre biodiversidade

Por iniciativa da ONU, foi realizada em 1992, no Rio de Janeiro, a Convenção sobre Biodiversidade. A reunião ficou conhecida como Eco-

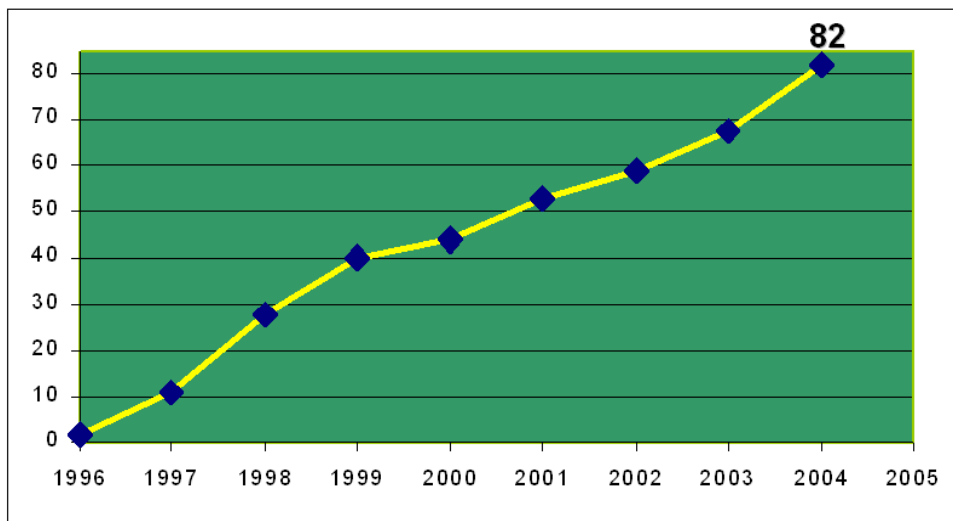


Figura 1. Área cultivada com variedades transgênicas no período de 1996 a 2004

92. O resultado deste encontro foi que a maioria dos países participantes concordou em seguir as normas então estabelecidas para a conservação da biodiversidade e o uso sustentável dos recursos genéticos. Esta convenção reconheceu a soberania de cada país sobre os recursos genéticos em seu território. Os termos da Eco-92 contemplam tanto as espécies silvestres quanto as cultivadas.

Os artigos 16 e 19 da Eco-92 são dedicados à biotecnologia e têm gerado retornos econômicos para países que exploram racionalmente seus recursos genéticos. Um exemplo foi o convênio firmado entre a Merck e a Costa Rica para a bioprospecção de ingredientes com fins medicinais. Essa parceria permitiu a identificação de novos princípios ativos e um retorno de US\$ 2 milhões durante um período de cinco anos, além de possíveis *royalties*, se produtos comerciais forem lançados.

A Eco-92 requer que todo país signatário tome medidas para preservar sua biodiversidade. Uma segunda Convenção sobre Biodiversidade aconteceu em Johannesburgo, em 2002. Essa convenção, conhecida como Rio +10, representou novos progressos e compromissos dos países na preservação da biodiversidade.

Protocolo de Biossegurança de Cartagena

O Protocolo de Cartagena, como

ficou conhecido, estabeleceu as bases para a normatização internacional do desenvolvimento dos OGMs. Esta reunião foi realizada em Cartagena, Venezuela, em 2000.

Este protocolo é um conjunto de normas para a manipulação, o transporte e o uso de OGMs que possam trazer algum risco para a biodiversidade. Nele é mencionado explicitamente o princípio da precaução e estabelecidas as diretrizes para o comércio internacional de OGMs. Este Protocolo só foi assinado pelo Brasil em 2003, depois da solução dos conflitos de interesse entre diferentes ministérios do governo federal.

O princípio da precaução foi elaborado para proteger o meio ambiente. Esse princípio deve ser amplamente observado pelos Estados, de acordo com suas capacidades. Quando houver ameaça de danos sérios ou irreversíveis, a ausência de absoluta certeza científica não deve ser utilizada como razão para postergar medidas eficazes e economicamente viáveis para prevenir a degradação ambiental.

A aplicação do princípio da precaução significa que, se há incerteza científica, devem ser adotados procedimentos para prevenir e evitar dano ao meio ambiente. No tocante aos riscos dos OGMs para o meio ambiente, o Brasil adotou uma lei moderna de biossegurança, a qual, além de contemplar o princípio da precaução, estabelece outros instru-

mentos jurídicos para a preservação da biodiversidade brasileira. O que não se deve fazer é invocar o princípio da precaução como subterfúgio para impedir que variedades geneticamente modificadas seguras para a saúde humana e para o meio ambiente sejam impedidas de serem plantadas pelos agricultores brasileiros. Neste particular, existem evidências de que o princípio da precaução tem sido preconceituosamente utilizado no Brasil por alguns grupos vestidos de defensores do meio ambiente. Uma discussão mais profunda sobre este

tema é apresentada no capítulo 8 deste livro.

Erosão genética

A perda na biodiversidade pode ser detectada pela extinção de espécies ou pela redução na variabilidade genética dentro das espécies.

Considerando que as florestas tropicais são ricas em recursos genéticos, o seu desmatamento é particularmente nocivo à biodiversidade. Pimm e Revem (2000) estimam que, dos 16 milhões de quilômetros quadrados dessas florestas existentes 100 anos atrás, somente a metade permanece. É importante notar que a biodiversidade não está uniformemente distribuída na Terra. Existem determinados ecossistemas especialmente ricos em biodiversidade, a exemplo da Floresta Amazônica, do Pantanal Mato-grossense e da Mata Atlântica, no caso do Brasil.

A principal causa da redução da biodiversidade é a fragmentação e destruição do *habitat*. O contínuo crescimento das cidades, da malha rodoviária e a expansão da fronteira agrícola são os maiores responsáveis pela destruição dos ecossistemas. A população mundial, hoje de 6,4 bilhões de habitantes, deverá dobrar nos próximos 50 anos, exercendo enorme pressão sobre os *habitats* remanescentes. O Brasil, país detentor de uma mega biodiversidade e em contínuo crescimento populacional, precisa encontrar al-

Quadro 1. Variedades transgênicas em fase de pré-comercialização

Espécie	Características
Soja	Maior produtividade Tolerância à salinidade Tolerância à seca Resistência a <i>Sclerotinia</i> Composição alterada da fração oléica Tolerância a herbicidas Resistência a insetos
Milho	Maior produtividade Maior teor de triptofano Maior teor de lisin Tolerância à salinidade Tolerância à seca Resistência a <i>Sclerotinia</i> Resistência a <i>Rhizoctonia</i> Composição alterada da fração oléica Coloração das sementes Tolerância a herbicidas Resistência a insetos
Algodão	Qualidade da fibra Composição alterada da fração oléica Resistência a <i>Rhizoctonia</i> Tolerância a herbicidas Resistência a insetos
Tomate	Qualidade nutricional Tempo de prateleira Qualidade do fruto Tolerância ao calo Resistência a doenças Resistência a insetos
Arroz	Maior produtividade Qualidade nutricional Resistência a doenças Nanismo
Cana-de-açúcar	Tolerância a herbicidas Resistência a doenças Resistência a insetos
Café	Baixo teor de cafeína
Eucalipto	Baixo teor de lignina

Fonte: Information systems for biotechnology (<http://www.nbiap.vt.edu>)

alternativas para a preservação de seus recursos genéticos. Uma das várias alternativas à incorporação de novas áreas do sistema produtivo é o aumento da produtividade das lavouras. Muitas outras medidas técnicas, socioeconômicas e políticas precisam ser adotadas simultaneamente para se assegurar a preservação dos recursos genéticos ainda existentes.

A moderna biotecnologia pode contribuir para a preservação da biodiversidade. Se adequadamente testadas quanto aos riscos para o meio ambiente, as variedades

transgênicas contribuem para protegê-lo. Entretanto, cada caso deve ser considerado separadamente. Os resultados de experimentos e as evidências obtidas nos plantios comerciais mostram um balanço ambiental positivo nas regiões que adotaram as variedades GM, observando-se o repovoamento com animais e aves que haviam abandonado essas regiões.

A segunda principal causa da redução da biodiversidade é a invasão e colonização por plantas exóticas. O intercâmbio de espécies

entre países tem sido um dos mais importantes fatores para o crescimento da agricultura mundial. Em geral, as principais espécies agrônômicas cultivadas em uma região são importadas de outras. No Brasil, a introdução da soja, do milho, do arroz, dos citros, do café, do feijão, do trigo e de outras espécies viabilizou a agricultura e a produção de alimentos no País. O mesmo se verifica em países de outros continentes. Entretanto, as espécies exóticas introduzidas poderão ameaçar as nativas, se aquelas apresentarem alta adaptação às condições locais. Em geral, as espécies introduzidas não são ameaçadas por pragas e doenças em seu novo *habitat*, o que lhes confere vantagem adaptativa.

As análises de biossegurança realizadas antes da liberação comercial das variedades GM devotam especial atenção à possível tendência de elas invadirem e colonizarem o meio ambiente (Borém, 2001). Essas variedades são, portanto, analisadas quanto às alterações morfo-fenológicas que a introdução do transgene possa ter causado. Alterações que confirmam maior agressividade ou habilidade de competição no meio ambiente poderão vetar sua liberação comercial. A maioria das espécies agrônômicas cultivadas pelo homem perdeu, ao longo do processo de domesticação, a capacidade de sobreviver sem a interferência humana. Com a eliminação de características como dormência das sementes, maturação desuniforme, deiscência de vagens na maturação e hábito de crescimento inderteminado do tipo sarmentoso, durante a domesticação, as espécies tornam-se dependentes do homem para sobreviverem.

Embora a maioria dos cientistas acredite que a introdução de apenas um ou poucos genes não possa reverter as espécies cultivadas aos seus ancestrais com elevada capacidade de invadir e habilidade de sobrevivência no meio ambiente, toda variedade GM é submetida à análise de biossegurança para se avaliar seu potencial efeito adverso ambiental. Crawley (2001) conduziu um estudo durante 10 anos, em 12 localidades, com quatro espécies (canela, batata,

milho e beterraba-açucareira), com o objetivo de avaliar a agressividade e invasibilidade das variedades GM. Em nenhum caso as variedades GM foram mais invasivas ou persistentes que seus equivalentes convencionais. Entretanto, apesar da expectativa de as variedades GM não serem mais invasíveis que as convencionais, cada caso deve ser estudado individualmente.

Utilização da biotecnologia na biodiversidade

Estudo da biodiversidade

Atualmente, a maioria das pesquisas biológicas tira proveito das ferramentas biotecnológicas para a solução de problemas ou aquisição de conhecimento. Na taxonomia, os marcadores moleculares são utilizados para identificar ecótipos de organismos ou espécies. Essas técnicas moleculares são importantes na manipulação das coleções vivas de recursos genéticos, os bancos de germoplasma. Informações moleculares de cada acesso podem esclarecer sua origem e o grau de parentesco com outros acessos, evitando a manutenção de duplicatas nesses bancos.

Os projetos genoma em andamento em diferentes países estão sequenciando o DNA de várias espécies. O conhecimento da sequência genômica dessas espécies disponibilizará uma variabilidade genética ainda pouco explorada pelo homem. O genoma da planta modelo para as dicotiledôneas, *Arabidopsis thaliana*, foi sequenciado em 2000. Os 126 Mbp de sequência dessa planta silvestre hoje se encontram à disposição do público, para consulta, e de toda a comunidade científica para utilização. O genoma do arroz, sequenciado em 2002, possui 430 Mbp. Atualmente, existem projetos de sequenciamento genômico em andamento para alfafa, milho, café, banana, eucalipto, tomate e outras espécies. O Brasil entrou para o seleto grupo de pesquisa genômica após ter sequenciado o genoma do primeiro fitopatógeno no mundo, em 2002, a bactéria *Xylella fastidiosa*.

Transferência interespecífica de genes

Uma vez que o código genético é universal, isto é, os genes dos diferentes seres vivos são codificados com a mesma linguagem e o mesmo material genético, é possível tomar um gene de um organismo e transferi-lo para qualquer outro, de forma que o indivíduo receptor possa também apresentar a característica conferida pelo gene transferido (transgene). Esta tecnologia permite a ampliação da variabilidade genética nas espécies, gerando oportunidade para os cientistas desenvolverem variedades adaptadas às mais diferentes situações. Organismos assim obtidos são denominados transgênicos ou simplesmente geneticamente modificados. A primeira planta transgênica foi obtida em 1985 e, em 1994, após os testes de biossegurança, a primeira variedade GM chegou às prateleiras dos supermercados, o tomate Flavr Savr. A área comutativa plantada com as diferentes variedades GM em diferentes países, desde então, atingiu 302 milhões de ha (Figura 1). Estados Unidos, Canadá, Argentina, China, Austrália, África do Sul e Brasil possuem grandes áreas plantadas com variedades GM.

Em 2003, as variedades GM foram plantadas pelos seguintes países: Estados Unidos, Argentina, Canadá, China, Brasil, México, Espanha, Austrália, África do Sul, Colômbia, Índia, Indonésia, Romênia, Uruguai, Bulgária, Honduras e Alemanha. As três principais espécies agrônômicas GM cultivadas são: soja, milho e algodão. Embora tolerância a herbicidas e resistência a insetos ainda sejam as principais características introduzidas nestas variedades, já se encontram em fase final de avaliação, em diferentes países, variedades GM com as mais diferentes características, as quais em breve deverão estar disponíveis comercialmente (Quadro 1).

O principal motivo de adoção das variedades GM pelos produtores tem sido econômico. Como o custo de produção destas variedades em geral é menor, elas oferecem maior

lucratividade para os produtores. Na maioria das circunstâncias, a produtividade das lavouras GM é semelhante ou superior à das convencionais. Entretanto, o principal benefício dessas variedades não pode ser mensurado em termos econômicos. Nas regiões onde foram plantadas variedades GM, ocorreu substancial redução no uso de defensivos agrícolas. Com o menor uso desses agrotóxicos, é menor a contaminação do ambiente, com claros benefícios para a biodiversidade local. Em muitas dessas regiões, tem-se notado a tendência de repovoamento com a fauna e flora nativas. Esses benefícios são notórios nos casos das variedades tolerantes a herbicidas e das resistentes a insetos.

Como pode ser observado no Quadro 3.1, muitas das características introduzidas nas variedades ora em fase final de avaliação trarão benefícios diretos para o meio ambiente, reduzindo a dependência dos produtores aos agrotóxicos, enquanto outras trarão benefícios diretos aos consumidores, como nos casos da melhoria na qualidade nutricional, a exemplo da alteração na fração oléica, desenvolvida para prevenção de doenças cardiovasculares.

Biodiversidade silvestre

A biodiversidade silvestre está sendo reduzida de forma sistemática na Europa há vários milênios. Os ecossistemas são alterados definitivamente com o desmatamento para o plantio de pastagens e lavouras. A América ainda possui parte das suas florestas nativas, as quais têm permanecido intocadas com o estabelecimento de reservas biológicas. Apesar dos esforços de conservação da biodiversidade, cerca de 50% das florestas tropicais já foram destruídas. O grande desafio dos cientistas é estabelecer alternativas que viabilizem a produção de alimentos e fibras que atendam a demanda mundial sem a necessidade de se fragmentar ou mesmo destruir a biodiversidade silvestre remanescente. Esse desafio é ainda maior para os países em desenvolvimento, como o Brasil. A produtividade de muitas

espécies cresceu substancialmente nas últimas décadas, mas a pressão pela expansão da fronteira agrícola, com a inclusão de novas áreas ao sistema produtivo, tem sido observada. Essas áreas têm sido adicionadas ao sistema produtivo com o ônus principalmente de reservas nativas com importante biodiversidade.

Segundo Conway (1999), a maneira mais promissora para se reduzir a destruição da biodiversidade remanescente é o aumento da produtividade. Neste particular, o melhoramento genético convencional e o biotecnológico têm grande potencial de contribuição. A introdução de genes para maior eficiência fotossintética, maior eficiência na translocação e melhor distribuição dos fotoassimilados entre a produção biológica e a produção econômica poderá viabilizar um novo salto em produtividade das culturas. Essas modificações genéticas, algumas já em fase de avaliação (Quadro 1), poderão ser a melhor alternativa para aliviar a pressão de fragmentação dos ecossistemas ainda virgens. A biotecnologia, ainda incompreendida por alguns grupos ambientalistas, é sua maior aliada na preservação dos ecossistemas. Ao aliviar a pressão por novos desmatamentos, preserva-se a biodiversidade. Certamente que a preocupação dos ambientalistas é correta e a avaliação da segurança destas variedades geneticamente modificadas para o meio ambiente é essencial. Por isso mesmo, cada nova variedade de GM é avaliada em diversos ambientes durante sucessivos anos antes de serem disponibilizadas para o plantio comercial.

Biodiversidade agrícola

A biodiversidade existente no germoplasma utilizado pelos agricultores deve ser conservada. O fluxo gênico das variedades melhoradas convencionais ou transgênicas para o germoplasma crioulo tem sido alvo da atenção dos cientistas. Portanto, o fluxo gênico não é uma preocupação peculiar à era da biotecnologia. O intercâmbio de

genes entre as variedades crioulas e as melhoradas tem ocorrido desde que os melhoristas começaram a lançar suas variedades. Apesar disso, as variedades crioulas têm permanecido estáveis e suas características não têm desaparecido. Adicionalmente, como uma precaução extra, essas variedades têm sido preservadas nos bancos de germoplasma.

Com o desenvolvimento de novas ferramentas da biotecnologia, tem sido mais fácil e precisa a medição do fluxo gênico, motivo da maior controvérsia atual sobre os OGMs. A substituição das variedades crioulas pelas modernas, uma prática natural entre os agricultores, à medida que estas se tornam disponíveis, pode resultar em perda de germoplasma. No Brasil, muitos tipos de feijão estão desaparecendo dos campos dos agricultores e, conseqüentemente, do mercado, em razão da crescente preferência do consumidor por apenas feijão tipo carioca e preto. Até cerca de 30 anos atrás, os feijões roxinho, bico-de-ouro, pardo, mulatinho, dentre outros, eram amplamente cultivados. Para preservação da grande biodiversidade dos feijões cultivados, amostras têm sido coletadas e armazenadas em câmaras frias dos bancos de germoplasma.

O fluxo gênico das variedades GM para as espécies silvestres limita-se àquele que pode ocorrer na espécie ou entre espécies sexualmente compatíveis. Isto é, no caso do feijão, este fluxo gênico se limitaria apenas aos seus ancestrais *Phaseolus vulgaris* var. *mexicanus* ou *P. vulgaris* var. *aborigeneus*, ecótipos da mesma espécie do feijão cultivado *P. vulgaris* var. *vulgaris*. Essas três entidades se inter cruzam facilmente. A soja (*Glycine max*) só é sexualmente compatível com seu parente silvestre *G. soja*. A espécie *G. max* não cruza com quaisquer outros tipos silvestres de *Glycine* ou de outras espécies. Adicionalmente, para que uma variedade melhorada de feijão ou de soja cruze com os tipos silvestres com os quais ela é sexualmente compatível, há necessidade de que ambos ocorram no

mesmo *habitat* (proximidade espacial) e floresçam na mesma época (proximidade temporal).

Nenhum problema ecológico é esperado após o fluxo gênico, a não ser que o gene transferido modifique a adaptação (agressividade, invasibilidade ou capacidade de colonização) do indivíduo receptor. Estudos comparativos entre o milho cultivado e seu parente silvestre teosinto revelam que o número de genes necessários para conferir elevada capacidade competitiva é grande (Doubly, 1999). Dessa forma, a introdução de apenas um ou poucos genes, via fluxo gênico, não seria suficiente para criar uma superplanta daninha. Maiores detalhes sobre este assunto o leitor encontrará no capítulo 13.

Acreditando na importância de se desenvolver seu programa em biotecnologia, o Brasil, por meio do CNPq e de outras agências de fomento à pesquisa do governo, enviou, para treinamento, anualmente, a partir dos anos 80, grande número de cientistas para várias universidades no exterior. Com grande massa crítica adequadamente treinada, vários centros de excelência em biotecnologia se estabeleceram no País. Em 1995, foi homologada a Lei de Biossegurança, que normatiza a avaliação dos OGMs quanto à segurança para a saúde humana e animal e para o meio ambiente. Desde então, o Brasil tem realizado pesquisas com plantas geneticamente modificadas e avaliado, em condições controladas, a segurança das novas variedades GM. Em 1998, a CTNBio, após avaliar a segurança da soja tolerante ao glifostato, recomendou sua liberação para plantio comercial. Entretanto, uma liminar judicial suspendeu esse direito, até que em 2003 o governo federal regulou esta matéria por meio de uma medida provisória. Os motivos que levaram o governo a autorizar o plantio dessa soja foram a segurança da soja transgênica para o homem e para o meio ambiente, conclusão à qual a CTNBio já havia chegado anteriormente. O atraso na liberação dessa variedade GM no Brasil obrigou os

sojicultores a continuarem usando herbicidas mais tóxicos e residuais que o glifosato. Esse herbicida teve sua patente expirada há alguns anos e hoje é produzido por mais de 18 empresas no País. Portanto, o atraso no uso dessa tecnologia representou grande ônus para o meio ambiente do Brasil e para o produtor brasileiro.

Bibliografia

- Adam A. 2000. Now for the hard ones. *Nature* 408: 792-793.
- Ammann, K. 1997. Botanists to blame? *Plant Talk* 8: 4.
- Ammann, K. e Papazov, Ammann, B. 1999. Where do we come from, where do we go from here? p. 199-204. In: Ammann, K., Jacot, Y., Simonsen, V. e Kjellson, G. (eds.). 1999. *Methods for risk assessment of transgenic plants III. Ecological risks and prospects of transgenic plants, where do we go from here? A dialogue between biotech industry and science. Proceedings of the Bern International Conference, 28-31. January 1998, Berne, Switzerland.* Birkhäuser, Basel.
- Ammann, K., Jacot, Y. e Rufener, M. P. 1996. Field release of transgenic crops in Switzerland: an ecological assessment of vertical gene flow. In: Schulte, E. e Käppeli, O. (orgs.) *Schwerpunktprogramm Biotechnologie, BATS, Basel.* p.101-157. <http://www.bats.ch/data/english/k3titel.htm>
- Ammann, K., Jacot, Y., Kjellsson, G. e Simonsen, V. 1999. *Methods of risk assessment of transgenic plants, III. Ecological risks and prospects of transgenic plants, where do we go from here? A dialogue between biotech industry and science. A multifaceted conference report.* Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin. 260 p.
- Anonymous: *FAO World Food Summit, Technical Background Documents, v. 1, 1996.* p. 9.
- Anonymous: *Population division of the Department of Economic and Social Affairs of the UN Secretariat*
- “Long Range Population projections based on the 1998 revision” New York, 1999. (Versão eletrônica).
- Anonymous: *UNEP/CBD/SBSTTA/4/8.* <http://www.biodiv.org/doc/sbstta/sbstta4/english/sbstta-4-08-e.doc>
- Borém, A. 2005. *Biotecnologia e meio ambiente.* Viçosa, MG: UFV. 1. ed. 425 p.
- Borém, A. 2000. Escape gênico: os riscos do escape gênico da soja no Brasil. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 10:101-107.
- Borém, A. 2001. *Escape gênico e transgênicos.* Visconde do Rio Branco: Editora Suprema. 2.004 p.
- Borém, A. 2001. Avaliação dos riscos de escape gênico. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 18: 54-59.
- Borém, A. e Ramalho, M.A.P. 2002. *Escape gênico e impacto ambiental.* *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 28: 44-47.
- Borém, A., Freire, E.C., Penna, J.C.V. e Barroso, P.A.V. 2003. *Considerations about cotton gene escape in Brazil: a review.* *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 3: 315-332.
- Buhenne-Guilmin, F. e Glowka, L. “An Introduction to the CBD” In: Krattiger, A. et al. 1994. “Widening Perspectives on Biodiversity”. IUCN, The World Conservation Union and the International Academy of the Environment.
- Bull, A. T. 1994. *University of Kent, UK, 7th IUMS Congress.*
- Burslem, D. F. R. P., Garwood, N. C. e Thomas, S. C. 2001. *Tropical forest diversity – the plot thickens.* *Science* 291: 606-607.
- Cohen, J. 2000. *Ground zero: AIDS research in Africa.* *Science* 288: 2150-2153.
- Comstock, G. 2000. <http://www.agbioworld.org/>.
- Conway, G. 1999. *The Doubly Green Revolution: Food for All in the 21st Century.* London Penguin Books.
- Crawley, M. J., Brown, S. L., Hails, R. S., Kohn, D. D. e Rees, M. 2001. *Transgenic crops in natural habitats.* *Nature* 409: 682-683.
- Crosby, A. W. 1986. *Ecological Imperialism, The Biological Expansion of Europe, 900-1900.* Cambridge University Press.
- Dennis, C. e SurrIDGE, C. 2000. *A. thaliana genome.* *Nature* 408: 791. Haywood V. *Personal Communication, Workshop on Biodiversity and Biotechnology, Botanical Garden. University of Bern, March 9-11, 2000.*
- Dickson, D. e Cyranoski, D. 2001. *Commercial sector scores success with whole rice genome.* *Nature* 409: 551.
- Freire, E.C., Barroso, P.A.V., Penna, J.C.V. e Borém, A. 2002. *Fluxo gênico: análise do caso do algodão no Brasil.* *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 29: 104-113.
- Gianessi, L. P. e Carpenter, J. E. 2000. *Case study in benefits and risks of agricultural biotechnology: roundup ready soybeans,* <ftp://debate:friends@sgiserv.unibe.ch/home/debate/soy85.pdf>
- Girsberger, M. A. 1999. *Biodiversity and the concept of farmers’ rights in international law, factual background and legal analysis.* In: Th. Cottier, *Series on Global Economic Law, n. 1, p. 283-291.*
- Gura, T. 1999. *New genes boost rice nutrient.* *Science* 285: 994-995.
- Hector, A. et al. 1999: *Plant biodiversity and productivity experiments in European grasslands.* *Science* 286: 1123-1127.
- IRRI, 2000. *Press release.* <http://www.cgiar.org/>.
- James, C. 2000. www.isaaa.org
- Jayaraman, K. S. 2000. *India intends to reap the full economic benefits.* *Nature* 402: 342-343.
- Jennings, S. et al. 2000. *To conserve rainforests, we have to help local people live sustainable.* *Nature* 405: 507.
- Jensen, M. N. 2000. *Silk moth deaths show perils of biocontrol.* *Science* 290: 230-231
- Johnson, B. 2000. *Genetically*

- modified crops and other organisms: implications for agricultural sustainability and biodiversity. In: Persley, G. J e Lantin, M. M. *Agricultural Biotechnology and the Poor*. Consultative Group on International Agricultural Research. p.131-138.
- Kaiser, J. 2000. Rift over biodiversity divides ecologists. *Science* 289: 1282-1283 .
- Leisinger, K.M. 2000. Ethical challenges of agricultural biotechnology for developing countries. In: Persley, G. J e Lantin, M. M. *Agricultural Biotechnology and the Poor*. Consultative Group on International Agricultural Research. p. 173-180
- Lipton, M. 2000. Reviving the stalled momentum of global poverty reduction: what role for genetically modified plants. 1999 Sir John Crawford Memorial Lecture, CGIAR International Centres Week, CGIAR Secretariat.
- Losey, J. E., Raynor, L. S. e Carter M. E. 1999: Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399: 214.
- Mace, G. M. 2000. It's time to work together and stop duplicating conservation efforts. *Nature* 405: 393.
- MacIlvain, C. 1999. Access issues may determine whether agri-biotech will help the world's poor. *Nature* 402: 341-345.
- Mahoney, R. J. 2000. Opportunity for agricultural biotechnology. *Science* 288: 615.
- Manteo, N. 1998. Wild Biodiversity: The Last Frontier? In: Yves, C. L. e Bedford, B. M. *Agricultural Biotechnology in International Development*. CABI Publications.
- Mepham, B. 2000. Ethics and novel food: an analytical framework. In: *First European Congress on Agriculture and Food Ethics*, Wageningen, March 4-6, 2000.
- Mikkelsen, T. R., Andersen, B. e Jorgensen, R. B. 1996: The risk of transgene spread. *Nature* 380: 31.
- Myers, N. et al. 2000. Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Naylor, R. L. et al. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405: 1017-1024.
- Ndiritu, C. G. 2000. Kenya, Biotechnology in Africa: Why the controversy? In: Persley, G. J. e Lantin, M. M. *Agricultural Biotechnology and the Poor*. Consultative Group on International Agricultural Research. p 109-114.
- Niraj, V. 1998. *Similarities, connections and systems*. Lexington Books. 192 p.
- Normile, D. 2000. Monsanto donates its share of golden rice. *Science* 289: 843-845.
- Nuffield Council on Bioethics. 1999. *Genetically modified crops: the ethical and social issues*. 164 p.
- Pimentel, D. 2000. Biological control of invading species. *Science* 289: 869.
- Pimm, S. L. e Raven, P. 2000. Extinction by numbers. *Nature* 403: 843-845.
- Pinstrup-Andersen, P. e Cohen, M. J. 2000. Modern Biotechnology for food and agriculture: Risks and opportunities for the poor. In: Persley, G. J. e Lantin, M. M. *Agricultural Biotechnology and the Poor*. Consultative Group on International Agricultural Research. p. 159-169.
- Pinstrup-Andersen, P. e Pandya-Lorch, R. 2000. Securing and sustaining adequate world food production for the third millennium. In: *World food security and sustainability: The impact of biotechnology and industrial consolidation*. NABC Report, 11.
- Raven, P. H. Botanical Garden, Missouri, Biotechnology and Genetic Resources, US-EC Task Force on Biotechnology Research, 1992.
- Reichhardt, T. 2000. Will souped up salmon sink or swim? *Nature* 406: 10-12
- Sears M. M. University of Guelph, Canada, press release January 4, 2000, M. K. Sears D. E. Stanley-Horn H. R. Mattila March 2000: Preliminary Report on the Ecological Impact of BT Corn Pollen on the Monarch Butterfly in Ontario msears@evbhort.uoguelph.ca, prepared for the Canadian Food Inspection. Agency and Environment Canada. <ftp://debate:friends@sgiserv.unibe.ch/home/debate/Searsreport1.doc>.
- Sharma, M. 2000. Biotechnology research and development. In: Persley, G. J. e Lantin, M. M. *Agricultural Biotechnology and the Poor*. Consultative Group on International Agricultural Research. p. 51-57.
- Six Academies' Report on Agricultural Biotechnology. Document 08/00 <http://www.roalsoc.ac.uk/>
- Staley, J. T. 1997. Current opinion. *Biotechnology* 8: 340-345.
- Strong, D. R. e Pemberton, R. W. 2000. Biological control of invading species – Risk and reform. *Science* 288: 1969-1970.
- Sukopp, U. e Sukopp, H. 1993. Das Modell der Einführung und Einbürgerung nicht einheimischer Arten - Ein Beitrag zur Diskussion über die Freisetzung gentechnisch veränderter Arten. *Gaia* 2: 267-288.
- Syngenta International. Press release. <http://www.syngenta.com>
- Watkinson, C. R, Freckleton, R. P., Robinson, R. A. e Sutherland, W. J. 2000. Predictions of Biodiversity response to genetically modified herbicide tolerant crops. *Science* 289: 1554-1556.
- Wolfe, M. S. 2000. Crop strength through diversity. *Nature* 406: 681-682.
- Ye, X., Al-Babili, S., Klöti, A., Zhang, J., Lucca, P., Beyer, P. e Potrykus, I. 2000. Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 287: 303-305.
- Youyoung, Z., Harlu, C., Jinghua, F. Yunyue, W. Yan, L., Jlanbing, C., Fan, J. X., Shisheng, Y., Lingping, H., Hei, L., T. W., Mew, P. S., Teng, Zonghua Wang & Mundt C. C. 2000. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature* 406: 718-722.



BIOPROSPECÇÃO

Biotecnologia aplicada a prospecção e uso de serviços e funções da biodiversidade

Maurício Antônio Lopes

Eng. Agrônomo, Ph.D., Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.
mlopes@cenargen.embrapa.br

Luciano Lourenço Nass

Eng. Agrônomo, Ph.D., Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.
lnass@cenargen.embrapa.br

Itamar Soares de Melo

Eng. Agrônomo, Ph.D., Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente.
itamar@cnpma.embrapa.br

Imagens cedidas pelos autores

1. Introdução

A busca do desenvolvimento sustentável representa um dos maiores desafios para a humanidade e, em especial, para o Brasil. Ao longo de séculos, o modelo de desenvolvimento no país tem evoluído do extrativismo e da agricultura de subsistência para uma exploração agroindustrial intensa, com a aplicação de tecnologias modernas e, em muitos casos, com ocupação e utilização desordenada dos recursos do ambiente, o que coloca em risco a nossa rica biodiversidade.

Apesar de o desenvolvimento de um setor agroindustrial pujante e moderno, ainda ocorrem no país as queimadas, provocadas e espontâneas, que consomem grandes áreas de cobertura vegetal, além de ações antrópicas diversas que provocam degradação do solo e dos recursos hídricos, redução progressiva da vegetação nativa de diversos biomas, em especial a Floresta Atlântica, o Semi-Árido, o Cerrado e a Amazônia, a maior floresta úmida do planeta, que abriga um percentual significativo da diversidade biológica conhecida e porcentagem ainda maior das reservas de água doce do planeta.

O Brasil reúne em seu território entre 15% e 20% de toda a biodiversidade mundial, o que lhe confere o título de país megadiverso. São 55 mil espécies vegetais, ou 22% do total mundial, 524 mamíferos (dos quais 131 endêmicos), 517 anfíbios (294 endêmicos), 1622 aves

(191 endêmicas) e 468 répteis (172 endêmicos), 3 mil espécies de peixes de água doce (ou três vezes mais que qualquer outro país), provavelmente entre 10 e 15 milhões de espécies de insetos (muitas famílias ainda não catalogadas), além de desconhecida riqueza de microrganismos, abrangendo imensa diversidade de espécies e de populações dentro de cada espécie, além de grande diversidade de interações entre espécies em cada ecossistema.

Globalmente, aproximadamente 1,7 milhões de organismos têm sido identificados. Contudo, o conhecimento sobre a riqueza de espécies é incompleto, especialmente nos trópicos. Estimativas conservadoras com relação ao número de espécies ainda não descritas nos trópicos podem chegar a 30 – 50 milhões de espécies. Daí a necessidade premente da conservação dos grandes biomas da Terra, pois quase todas as espécies que outrora viveram sobre o nosso planeta estão hoje extintas.

Para o Brasil, a Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB), de 1992, foi um marco para novas abordagens políticas, econômicas e técnicas relacionadas ao acesso e utilização sustentável desta rica biodiversidade. A Convenção tem motivado grande debate e mobilização pública, individual e coletiva, em relação à diversidade biológica, tornando-se tema de preocupação central no país na última década. A Convenção determina que a diversidade biológica, além de preocupação comum da humanidade, é

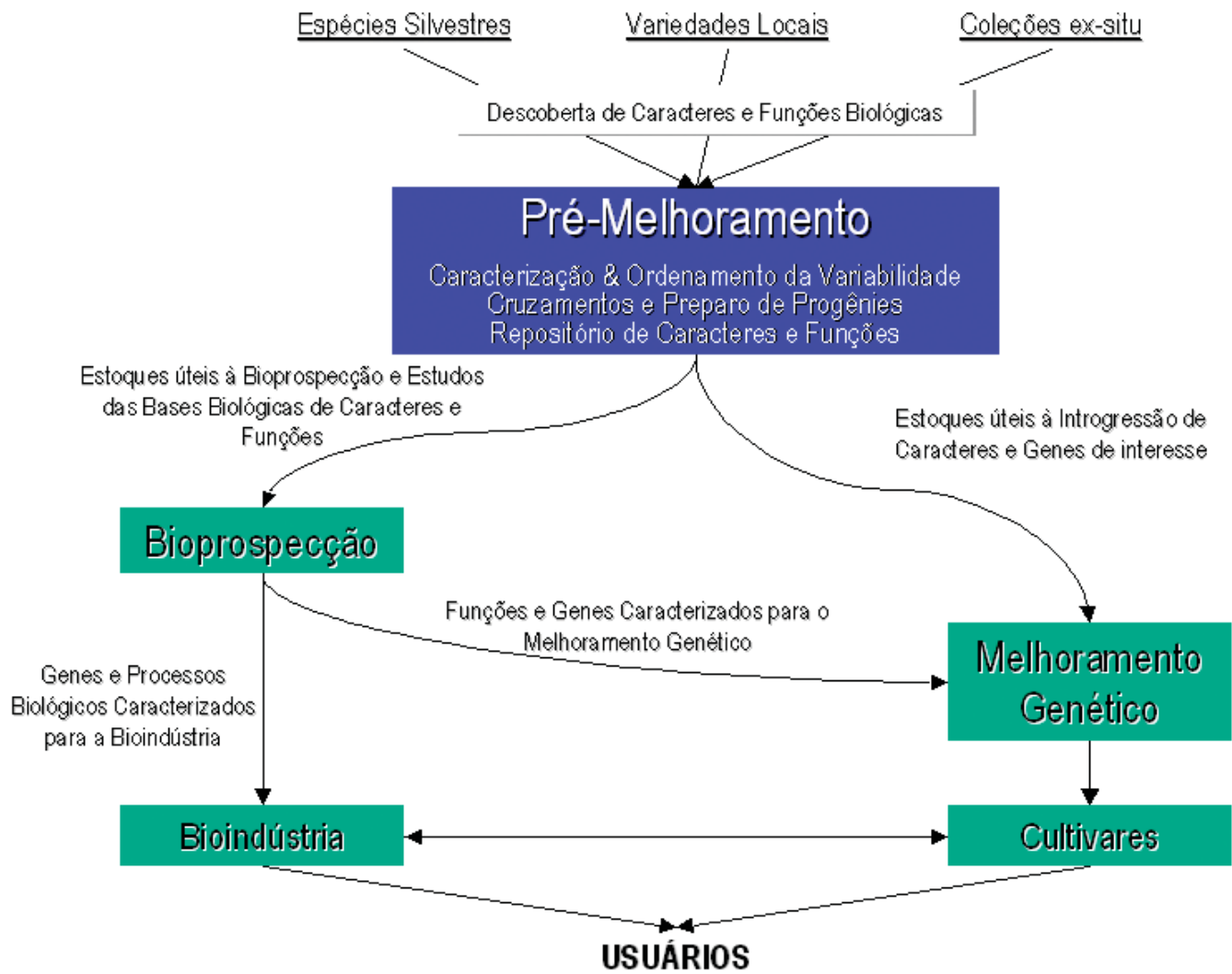


Figura 1. Bancos de Caracteres e Funções viabilizam o acesso à variabilidade genética de espécies silvestres, variedades tradicionais e coleções *ex-situ*, visando à organização de acervos de recursos de interesse do melhoramento genético e da biotecnologia. Estes acervos são constituídos por populações, linhas endogâmicas e suas progênes, que expressem de diferentes maneiras caracteres ou funções biológicas de interesse (genótipos contrastantes, populações segregantes, linhas recombinantes etc.) sendo úteis para introgressão de variabilidade aos programas de seleção, bem como para produção de estoques apropriados para estudos detalhados (genético-fisiológico-moleculares) das bases biológicas desses caracteres ou funções. Segundo este modelo, pode-se criar repositórios de variabilidade útil aos programas de melhoramento genético, prospecção de genes e estudos das bases biológicas de processos importantes como tolerância/resistência a estresses bióticos e abióticos ou programas de diversificação de uso e agregação de valor como desenvolvimento de novos alimentos, matérias-primas e biomateriais aplicáveis a diversos ramos dos setores agroalimentar e agroindustrial.

patrimônio de cada país onde ocorre, sendo seu uso sujeito a sua legislação, o que tem ensejado a discussão e a definição de arcabouços legais e normativos para regulação do seu acesso, compartilhamento e uso em diversos países, incluindo o Brasil.

A principal ênfase deste novo código de uso da biodiversidade é a conservação e o seu aproveitamento sustentável, através da regula-

mentação do seu acesso, compreendendo modelos e formas de contratos, que reconheçam direitos de propriedade intelectual ou formas alternativas de proteção do conhecimento associado, incluindo aqueles relativos aos conhecimentos tradicionais. A grande ênfase na discussão deste arcabouço legal para regulação do acesso e uso da biodiversidade no Brasil se situa geralmente na visão de que a Biodiversidade nacional é

uma imensa riqueza inexplorada ou um grande potencial de oportunidades econômicas para os setores farmacêutico, agroindustrial, biotecnológico, etc, o que é sem dúvida verdadeiro.

No entanto, há que se considerar que, a despeito do potencial econômico representado pela biodiversidade, o foco central da CDB foi a busca de formas de contraposição ao problema global causado pela

MARCADORES MOLECULARES

ENGENHARIA GENÉTICA

CIÊNCIAS GENÔMICAS

TECNOLOGIAS REPRODUTIVAS

MAPAS MOLECULARES

Melhoramento Genético
Kits de Diagnóstico
Exames de Paternidade
Genética Forense

TRANSGÊNICOS

Tolerância a Estresses
Qualidade Nutricional
Melhoria Ambiental
Novos Bioprodutos

PROJETOS GENOMA

Xylella
Arroz
Humano
Camundongo

CLONAGEM

Melhoramento Animal
Conservação Recursos
Reprodutores & Matrizes
Biofábricas

Bioinformática, Engenharia Metabólica, Biossegurança, etc...

Figura 2. Vertentes de inovação da biotecnologia moderna. A biotecnologia moderna tem gerado impactos significativos a partir: a) da genética molecular, baseada na utilização de marcadores para desenvolvimento de mapas genéticos, kits e ferramentas para análises moleculares detalhadas; b) engenharia genética para produção de organismos modificados para funções e caracteres de interesse econômico, social e ambiental; c) das ciências genômicas que permitem compreensão da composição e funcionamento de genomas completos, seus produtos, interações e funções; d) das tecnologias reprodutivas avançadas, que permitem potencializar e especializar sistemas de produção animal para diversos fins. O avanço nessas grandes vertentes de inovação tem provocado ainda o surgimento de diversas disciplinas e tecnologias assessorias, como a bioinformática, a biossegurança etc.

perda acelerada da biodiversidade e suas conseqüências diretas e indiretas, como a degradação do solo e da água, o aquecimento global com a conseqüente intensificação de estresses hídricos, térmicos e nutricionais, além de outros perigosos riscos ambientais, como a perda da diversidade de vida, que certamente colocam sob risco a própria sustentabilidade da civilização.

Considerando este objeto central da CDB, grande parte das atividades econômicas hoje desenvolvidas em diversos setores, como o extrativista, o industrial, o agroindustrial etc., deverão ser gradualmente reconvertidas a modelos mais sustentáveis de exploração dos recursos naturais. O grande desafio é, portanto, a antecipação de alternativas, especialmente no campo tecnológico, além da implementação de políticas públicas e mecanismos de gestão que viabilizem estratégias de acesso e uso sustentável dos recursos naturais para suporte a atividades essenciais para o bem-estar e o progresso do homem, como a agricultura, a mineração, o lazer etc.

2. Sustentabilidade da Agricultura

Recursos chaves para produção de alimentos (sementes, solo, matéria orgânica, água etc.) são renováveis, o que potencialmente permitiria que a agricultura fosse uma atividade altamente sustentável. Por outro lado, a agricultura moderna tem outras características que mais a aproximam de uma indústria extrativa, similar, por exemplo, à mineração, o que tende a torná-la não sustentável. Adicionalmente, a agricultura pode envolver custos não ambientais de longo prazo, como impactos para os trabalhadores, comunidades, regiões e consumidores, em diferentes graus, de acordo com a atividade.

Apesar de os grandes avanços tecnológicos das últimas décadas, eles têm sido ainda tímidos para superar o desafio de tornar a agricultura e atividades associadas, como um todo, mais sustentáveis. Hoje vivemos a necessidade premente de produzir volumes crescentes de alimentos e matérias-primas e de gerar superávits econômicos que aumentem a capacidade de investimentos do país.

Não há dúvidas que o agronegócio brasileiro se definirá, cada vez mais, pela nossa capacidade de incorporar, de forma contínua, inovações tecnológicas que permitam atender às crescentes demandas do mercado interno e desafiar os subsídios dos competidores e a tendência histórica de preços decrescentes no mercado internacional de produtos agrícolas. Em futuro próximo, as inovações demandadas da pesquisa agropecuária terão que propiciar a incorporação de avanços simultâneos nas vertentes da produtividade e da qualidade, com uma velocidade comparável ou superior à velocidade de avanço tecnológico dos nossos competidores.

Esta pressão, que tenderá a se intensificar no futuro, dada a vocação agrícola do país, submete a nossa agricultura, que tem sido o setor mais responsivo da economia brasileira durante a última década, a uma pressão de crescimento e expansão pouco compatíveis com as demandas de tempo e esforço na direção de modelos mais sustentáveis de produção. É, portanto, difícil imaginar que os avanços tecnológicos ba-

seados nas estratégias convencionais de inovação nos permitirão dar grandes saltos em direção a sistemas sustentáveis em curto espaço de tempo.

Modelos de reconversão deverão ser buscados, muitas vezes sustentados em soluções do próprio ambiente, que aplicadas a estas atividades, as tornem menos agressivas. Em certa medida, a agricultura brasileira dá exemplos da possibilidade de se alcançar tal objetivo. A utilização do manejo de culturas baseado no plantio direto ocupa, no Brasil, cerca de 20 milhões de hectares de lavouras, com expressiva contribuição para redução de erosão, melhoria geral da qualidade do solo e recarga do lençol freático. A fixação biológica do nitrogênio, através da inoculação de bactérias diazotróficas, tem possibilitado a redução significativa da aplicação de fertilizantes químicos em culturas como a soja e, mais recentemente, cana-de-açúcar, com importante redução de impactos ambientais como, por exemplo, a contaminação de recursos hídricos por nitratos. O controle biológico utilizado regularmente em diversas culturas, como soja, cana-de-açúcar, algodão e fruteiras também tem reduzido a demanda por controle químico de pragas e doenças em diversos sistemas de manejo, com impactos positivos para o meio ambiente, a qualidade de vida dos trabalhadores rurais e para a segurança e qualidade dos produtos. Azevedo (1998) destacou a importância do emprego do controle biológico em países de clima tropical e com vastas áreas plantadas como é caso do Brasil. O autor ressaltou, ainda, que o país tem um bom contingente de pesquisadores envolvidos em controle biológico e detém quase que uma supremacia no setor tanto em termos de pesquisa básica como principalmente aplicada.

Há, no entanto, que se considerar que, pela diversidade e complexidade da agricultura brasileira, estes avanços, embora relevantes, dificilmente bastarão para melhor posicionar a atividade do ponto de vista de sustentabilidade. Quando

se avalia o conjunto da agricultura brasileira, há claras evidências de que as tecnologias tradicionais, consagradas na chamada Revolução Verde, já não resolvem todos os problemas e cobram um alto preço em termos de qualidade ambiental e de saúde humana, especialmente pelo uso crescente de insumos químicos. A taxa de crescimento médio no rendimento das safras, por exemplo, caiu de 3% ao ano na década de 70 para cerca de 1% ao ano na década de 90, indicando a gradual exaustão deste modelo.

3. Agroecossistemas, Biodiversidade e Serviços Ambientais

A grande pressão da agricultura sobre o meio ambiente indica que precisamos buscar um novo patamar de conhecimento, um novo paradigma científico e tecnológico, a fim de romper estes limites, em especial na região tropical do globo, onde estão os ambientes mais desafiadores para a agricultura, além das nações mais pobres. Os sistemas de inovação para agricultura terão, cada vez mais, que se referenciar em aspectos que compreendam, além da visão utilitária da agricultura, como produtora de alimentos e matérias-primas essenciais para a sobrevivência e progresso do homem, outras dimensões e valores.

Em 1998, a FAO realizou em conjunto com a Secretaria Executiva da CDB e o Governo da Holanda um encontro técnico denominado "*Sustaining Agricultural Biodiversity and Agro-ecosystem Functions*" quando foram discutidas oportunidades, incentivos e estratégias para conservação e uso sustentável da biodiversidade em agroecossistemas. Considerando as discussões ocorridas no evento, o documento final apresentou uma série de recomendações importantes, dentre as quais se destacou a necessidade de se ampliar a compreensão de que biodiversidade agrícola engloba grande diversidade de animais, plantas e microrganismos, necessários para manutenção de funções vitais dos

agroecossistemas, sua estrutura e processos que suportam a produção de alimentos e matérias-primas vitais para a humanidade. Três dimensões da agrobiodiversidade foram apresentadas como úteis para estruturação de futuros programas e planos:

1. Sustentabilidade dos sistemas produtivos em todos os níveis, com ênfase em diversidade, contrapondo a visão de homogeneização e massificação de sistemas;

2. Ênfase na conservação e melhoria dos recursos biológicos que suportam os sistemas de produção, especialmente o solo e a microbiota, os polinizadores e predadores;

3. Reconhecimento, recuperação e incorporação aos sistemas produtivos dos serviços ecológicos e sociais dos agroecossistemas, como proteção da paisagem e da vida selvagem, proteção do solo e promoção de sua qualidade (fertilidade, estrutura e funções), proteção dos ciclos hidrológicos, da qualidade do ar, sequestro de carbono etc.

O encorajamento da manutenção, da sustentabilidade e a dinamização da diversidade biológica em todos os sistemas de produção agrícola, dos diversificados aos especializados, intensivos ou extensivos é uma necessidade. É premente que se reconheça a interdependência entre plantas e animais que se colhem dos sistemas produtivos com a intrincada teia de organismos e sistemas que provêm suporte biológico e serviços ambientais vitais para o funcionamento desses sistemas.

Assim, melhorar a integração e a coordenação das atividades e processos que sustentam a diversidade biológica em agroecossistemas, sua produtividade e o provimento das funções e serviços ambientais deles provenientes são fundamentais para que se alcance e se mantenha a sustentabilidade dos agroecossistemas. A valoração desses recursos, com diretrizes para prospectar e potencializar serviços e funções

como balanço de gases atmosféricos, regulação do clima, regulação dos ciclos hidrológicos, controle de erosão, formação e qualidade do solo, detoxificação/eliminação de resíduos, polinização, controle biológico, refúgio, produção de alimentos seguros, desenvolvimento de novas fontes de biomateriais, suporte para culturas e valores, incluindo valores estéticos e espirituais, além de oportunidades para recreação, lazer e turismo, é um grande desafio a ser encarado e superado, em especial pelas organizações de ciência e tecnologia agropecuária.

4. Biotecnologia Aplicada à Prospecção e Uso de Serviços e Funções da Biodiversidade

A revolução na base de conhecimentos dos sistemas biológicos a partir da biotecnologia moderna vem gerando novas e fascinantes oportunidades de inovação nas áreas da saúde, agricultura, meio ambiente, além de grandes avanços na base de conhecimentos no âmbito das ciências da vida (*life sciences*). Este é um movimento global, e o acervo de conhecimentos sobre organismos vivos vem estimulando o desenvolvimento de novas vertentes de inovação como a genômica, a bioinformática, a engenharia metabólica etc., além de novas aplicações de processos e funções biológicas nos mais variados campos da atividade humana, com profundas implicações econômicas e sociais.

Apesar de as atenções estarem muito centradas na produção e no uso de plantas geneticamente modificadas na agricultura, as implicações e impactos das diversas vertentes de inovação que compõem a biotecnologia moderna vão muito além da transgenia.

Com o seqüenciamento completo de genomas de diversos organismos, expandem-se as possibilidades no campo da genômica comparativa, que faz uso das similaridades, muitas vezes significativa, existentes entre espécies. Conhecimentos gerados por estudos de espécies bastante distintas, como por exem-

plo o camundongo, também contribuem para a compreensão da organização e do funcionamento do genoma humano, enquanto espécies mais relacionadas, como o arroz, sorgo, milho, trigo e outras gramíneas apresentam similaridades surpreendentes em organização genômica, seqüências e funções gênicas. Assim, com os novos recursos e técnicas baseadas em manipulação gênica e transgenia, um novo universo se abre para identificação de nova variabilidade que, ordenada, estudada e definida como útil, poderia ser transferida às espécies de interesse por meio de transformação genética.

O acúmulo de informações de dados de seqüência de DNA e de mapeamento de genes no genoma de diferentes espécies vegetais evidenciou a conservação de genes e da ordem de genes no genoma de diferentes organismos. Recentes avanços da genética molecular e da genômica vêm permitindo a identificação em espécies com genoma menos complexo, principalmente naquelas que tiveram o genoma completamente seqüenciado como o arroz e *Arabidopsis*, genes ou regiões genômicas associadas ao controle de características econômicas. Por meio da genômica comparativa é possível identificar em espécies com genomas mais complexos (ex., milho e trigo) regiões ortólogas com função gênica similar, acelerando o conhecimento básico e facilitando o trabalho com outras espécies. Estes avanços têm estimulado o desenvolvimento de programas inovadores na interface Recursos Genéticos-Biodiversidade-Biotecnologia, onde residem possibilidades extraordinárias para se prospectar serviços & funções que possam ser integrados à agricultura, tornando-a mais competitiva, segura e sustentável. Além de aumentar as possibilidades de utilização dos acessos mantidos nos bancos de germoplasma, intensificando os esforços de caracterização e desenvolvimento de acervos de variabilidade para o melhoramento genético e programas de bioprospecção, a integração da genômica aos programas de recursos genéticos e

melhoramento permite acesso a um novo acervo de caracteres da biodiversidade, antes inacessível. Hoje, programas de pesquisa que integram estratégias tradicionais, como o melhoramento genético e a genômica comparativa buscam identificar, manipular e validar a expressão de diferentes genes de importância econômica e ambiental, culminando no desenvolvimento de novos recursos genéticos com um valor agregado potencial muito maior do que os disponíveis.

5. Bancos de Caracteres para Prospecção e Uso de Serviços e Funções da Biodiversidade

Conforme aumenta o interesse por diversificação e agregação de valor à agricultura, na forma de novos alimentos, fibras, aromas e biomateriais aplicáveis a diversos ramos industriais, além de caracteres e funções que agreguem segurança ambiental e sustentabilidade aos sistemas produtivos, o interesse do melhoramento genético se voltará inevitavelmente para a biodiversidade, buscando-se diversificação de espécies, sistemas e processos. Adequadamente estudadas e conhecidas, muitas funções biológicas importantes poderão gradualmente ser incorporadas às espécies de interesse. Assim, caracteres às vezes pouco considerados no âmbito dos programas de melhoramento genético, como aqueles relacionados à qualidade ambiental, deverão despertar cada vez mais interesse, em função da mobilização da sociedade por um ambiente mais limpo, além do crescimento das barreiras não tarifárias, que imporão penalidades aos nossos produtos e processos, caso não levem em conta critérios e práticas ambientalmente seguros. A busca de funções que tenham impacto positivo em processos como regulação da composição química da atmosfera, regulação do clima, absorção e reciclagem de resíduos, suprimento de água, ciclo de nutrientes, polinização e controle biológico, dentre outros, se tornará mais intensa na medida em que cresçam os

impactos das atividades do homem sobre o meio físico, com a consequente redução na disponibilidade de recursos. Neste cenário, o melhoramento genético combinado à biotecnologia poderá se tornar importante estratégia de descoberta e disponibilização de funções biológicas viabilizadoras de uma agricultura mais sustentável.

Os programas de pré-melhoramento podem se tornar, além de elo de ligação entre os recursos genéticos vegetais e o melhoramento genético, uma importante estratégia de ligação destes com os programas biotecnológicos, em especial aqueles dedicados à genômica comparativa. Considerando que o principal objetivo dos programas de pré-melhoramento é buscar a identificação de genes e/ou características de interesse em germoplasma exótico ou em populações não melhoradas para incorporação em materiais elites, eles poderão se tornar importantes fontes de variabilidade para composição de “**Bancos de Caracteres e Funções**” para os mais variados objetivos (Figura 1). Na verdade, para funções biológicas com variabilidade genética insuficiente, composição de Bancos de Caracteres a partir dos materiais elite poderá ser inviável, havendo necessidade da busca de variabilidade em parentes silvestres, raças locais (*landraces*), ou mesmo em outras espécies do mesmo *pool* gênico e, em casos mais extremos, em espécies completamente distantes filogeneticamente. A existência de tais bancos abrirá oportunidades extraordinárias para se prospectar serviços & funções que possam ser integrados à agricultura, tornando-a mais competitiva, segura e sustentável. Além do mais, os bancos de caracteres ampliarão a possibilidade de se aumentar a utilização dos acessos mantidos nos bancos de germoplasma, intensificando os esforços de caracterização e desenvolvimento de acervos de variabilidade para o melhoramento genético e programas de bioprospecção (Figura 1).

O conceito de Bancos de Caracteres se baseia no fato de que

estudos de mecanismos e funções biológicas são extremamente dependentes de técnicas de *screening* e seleção de genótipos úteis, de preferência genótipos contrastantes que permitiriam a geração de populações estruturadas para estudos detalhados dos caracteres em questão. Os melhoristas trabalham continuamente com *screening* e seleção, muito embora não seja usual os programas identificarem e manterem genótipos contrastantes. Indivíduos com desempenho inadequado para o caráter em questão são usualmente descartados ao longo das várias etapas do processo. No entanto, para organização de Bancos de Caracteres, há necessidade de se identificar padrões reconhecidamente contrastantes, na forma de populações, linhagens ou outros genótipos de interesse, que são essenciais para desenvolvimento de conjuntos de progênies segregantes (recombinantes) F_2 , F_3 , F_4 , retrocruzamentos na direção dos dois genitores e, quando desejável, conjuntos de linhagens recombinantes. A existência desses acervos de recombinantes poderá viabilizar progressos consideráveis no estudo de caracteres complexos, utilizando os modernos recursos disponíveis para mapeamento e estudos funcionais.

Linhagens recombinantes são acervos especialmente desejáveis na composição de Bancos de Caracteres. Estas linhagens endogâmicas são produzidas por meio de sucessivas autofecundações de indivíduos F_2 , oriundos de um cruzamento entre duas linhagens divergentes e com características bem definidas. Os indivíduos (S_1) provenientes de cada autofecundação de indivíduos F_2 contêm cerca da metade dos genes em homozigose em relação à geração anterior. Após certo número de gerações de autofecundação (*single seed descent*), cada linha recombinante terá teoricamente, aproximadamente 100% dos alelos dos genitores em homozigose e fixados aleatoriamente. Quanto maior o número de progênies F_2 autofecundadas, maiores serão as combinações de genes dos genitores,

permitindo análises detalhadas de múltiplas combinações de genes e QTLs (*Quantitative Traits Loci*) envolvidos na definição de caracteres complexos. Em relação a outros tipos de progênies segregantes como F_2 , F_3 e retrocruzamentos, as linhagens recombinantes apresentam como principal vantagem o fato de constituírem uma população permanente, na qual o processo de segregação é completo ou quase completo, mantendo indefinidamente sua composição gênica para estudos detalhados do caráter em questão. Em adição, linhagens recombinantes podem ser avaliadas em condições diferentes de ambientes. Desde que um genótipo é representado por uma linhagem, ao invés de um indivíduo heterozigoto, avaliações mais precisas dos componentes genéticos de caracteres mais complexos poderão ser realizadas com vantagem nesses genótipos. Uma desvantagem das linhagens recombinantes é o fato de que, sendo homozigotas, poderão limitar a avaliação do impacto da heterozigose e da heterose na expressão de determinados caracteres. Também, a depender do modo de reprodução da espécie, pode ser difícil produzir tais linhagens em quantidades suficientes.

Muito embora o esforço tradicional em recursos genéticos vegetais seja direcionado à produção de insumos úteis ao melhoramento genético, há possibilidades de se ampliar a utilidade desses acervos, de forma a incluir de forma mais eficiente outros potenciais usuários, como os programas de bioprospecção e descoberta de genes e funções biológicas de interesse. Com o avanço nas tecnologias que permitem análises genéticas detalhadas, fenotipagem eficiente via análises fisiológicas e bioquímicas, além de genotipagem de alta resolução via técnicas moleculares, amplia-se tremendamente a nossa capacidade de extrair mais valor dos recursos genéticos, aumentando a produtividade dos acervos dos Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) e das coleções de trabalho dos programas de melhoramento. Hoje existem mi-

lhares de genes de vários organismos seqüenciados cuja função biológica precisa ser determinada. A disponibilidade de recursos genéticos vegetais adequadamente caracterizados e organizados e a capacidade de determinação massiva da função de um grande número desses genes abre possibilidade para avanços significativos no campo da genômica comparativa e funcional. Uma tecnologia para caracterização dos níveis de expressão de grande número de genes que vem ganhando destaque é a tecnologia de *microarrays* ou microarranjos. A tecnologia de microarranjos de DNA é baseada em clones de DNAs que são roboticamente fixados em placas de vidro e subsequentelemente hibridizados com sondas marcadas com diferentes tipos de fluorescência. Essa metodologia tem auxiliado a análise funcional de um grande número de genes em um curto espaço de tempo e poderá gerar grandes volumes de informações úteis acerca de caracteres complexos, especialmente se Bancos de Caracteres e coleções de mutantes adequadamente organizados proverem os fenótipos e genótipos adequados para análises.

6. Conclusões

Diferentemente dos grandes produtores de alimentos localizados em regiões de clima temperado, o Brasil apresenta a maior parte do seu território marcado por grande fragmentação ambiental, com marcantes diferenças edafoclimáticas, estrutura fundiária complexa e padrões de utilização tecnológica, de infraestrutura e logística bastante díspares. Apesar disso o Brasil é líder mundial na produção agropecuária tropical, tanto com respeito à diversidade da produção quanto à produtividade e eficiência do sistema agroindustrial. O Brasil vem experimentando nos últimos anos contínuos aumentos de produtividade em praticamente todas as culturas de importância estratégica, culminando com os avanços extraordinários observados nas últimas safras, quando a produção de

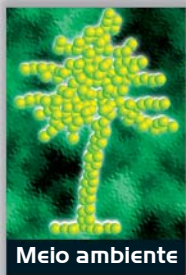
grãos rapidamente superou a barreira dos 100 milhões de toneladas. Na última década a produtividade das principais *commodities* mais que dobrou, o que tem evitado avanço desordenado sobre regiões sensíveis do ponto de vista ambiental; os avanços em melhoramento genético, manejo integrado de pragas, em manejo de solos, nutrientes e culturas de acordo com a lógica conservacionista do plantio direto têm sido fatores importantes na viabilização de uma agricultura mais sustentável com redução na utilização de agroquímicos e de práticas que levem à degradação ou fragilização da nossa base de recursos naturais.

Conforme aumenta o interesse por diversificação e agregação de valor à agricultura, na forma de novos alimentos, fibras, aromas e biomateriais aplicáveis a diversos ramos industriais, o interesse do melhoramento genético se voltará inevitavelmente para a biodiversidade, buscando-se diversificação de espécies, sistemas e processos. Adequadamente estudadas e conhecidas, muitas funções biológicas importantes poderão gradualmente ser incorporadas às espécies de interesse. Por outro lado, caracteres às vezes pouco considerados no âmbito dos programas de melhoramento genético, como aqueles relacionados a qualidade ambiental, deverão despertar cada vez mais interesse, em função da mobilização da sociedade por um ambiente mais limpo, além de barreiras não tarifárias, que imporão penalidades aos nossos produtos, caso não sejam produzidos de acordo com critérios e práticas ambientalmente seguros. Assim, a busca de funções que tenham impacto positivo em processos como regulação da composição química da atmosfera, regulação do clima, absorção e reciclagem de resíduos, suprimento de água, ciclo de nutrientes, polinização e controle biológico, dentre outros se tornará mais intensa na medida em que cresçam os impactos das atividades do homem sobre o meio físico, com a

consequente redução na disponibilidade de recursos. Neste cenário, espera-se que a combinação de estratégias da biotecnologia moderna com as estratégias tradicionais de inovação tecnológica para a agricultura, como o melhoramento genético, o controle biológico e outras, se torne o caminho para descoberta e incorporação de funções biológicas viabilizadoras de uma agricultura mais sustentável.

Literatura consultada

- Duvick, D.N. 1990. Genetic enhancement and plant breeding. In: J. Janick; Simon, J.E. (Ed.) *Advances in new crops*. Timber Press, Portland, OR. P.90-96.
- Lopes, M.A. 1999. Banco de Caracteres: Desenvolvimento de Recursos Genéticos Utilizáveis na Investigação de Mecanismos de Controle de Caracteres de Importância Econômica em Milho. Embrapa Milho e Sorgo, 13 pp. (manuscrito não publicado).
- Lopes, M.A. 2002. Biodiversidade e Biotecnologia. In: Anais da Conferência Nacional de Ciência, Tecnologia & Inovação - Tema: Desafios Estratégicos, Simpósio 3: Biodiversidade e Biotecnologia. Revista Parcerias Estratégicas. Ministério da Ciência e Tecnologia - MCT.
- Nass, L.L.; Paterniani, E. 2000. Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. *Scientia Agricola*, v.57, p.581-587.
- Nass, L.L.; Valois, A.C.C.; Melo, I.S.; Valadares-Inglis, M.C. 2001. (Ed.) Recursos genéticos e melhoramento – plantas. Rondonópolis, MT - Fundação MT. 1183p.
- World Resources Institute. 1992. *World resources 1992-93: an assessment of the resource base that supports the global economy*. New York: WRI.



BIORREMEDIAÇÃO

Aspéctos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos

Christine Claire Gaylarde

Microbiologista, M.Sc., Ph.D., Profa. do Depto. de Biofísica, UFRGS
cgaylarde@yahoo.com

Maria De Lourdes Bellinaso

Bioquímica, M.Sc., Ph.D., Profa. do Depto. de Biologia e Química, UNIJUÍ
malou@cpovo.net

Gilson Paulo Manfio

Biólogo, M.Sc., Ph.D., Pesquisador da Natura Inovação e Tecnologia em Produtos Ltda
gilsonmanfio@natura.net

Imagens cedidas pelos autores

Biorremediação é um processo no qual organismos vivos, normalmente plantas ou microrganismos, são utilizados tecnologicamente para remover ou reduzir (remediar) poluentes no ambiente. Este processo biotecnológico de remediação tem sido intensamente pesquisado e recomendado pela comunidade científica atual como uma alternativa viável para o tratamento de ambientes contaminados, tais como águas superficiais, subterrâneas e solos, além de resíduos e efluentes industriais em aterro ou áreas de contenção. Embora outras tecnologias que usam processos físicos e/ou químicos sejam também indicadas para descontaminar ambientes poluídos, o processo biológico de biorremediação é uma alternativa ecologicamente mais adequada e eficaz para o tratamento de ambientes contaminados com moléculas orgânicas de difícil degradação e metais tóxicos.

As moléculas orgânicas de difícil degradação, denominadas “recalcitrantes”, podem ser de origem natu-

ral, sintetizadas pelo metabolismo biológico, ou sintéticas, produzidas por tecnologias industriais modernas e estranhas ao ambiente natural, por esta razão denominadas “xenobióticas” (*xenos*, do grego = estrangeiro). Estas moléculas xenobióticas, introduzidas no ambiente desde o início do século XX, compreendem vários tipos de compostos, aplicados na indústria química e de materiais, tal como agrotóxicos, corantes, fármacos, polímeros e plásticos, podendo ser tóxicas a sistemas biológicos e/ou recalcitrantes, uma vez que não fazem parte do conjunto de moléculas produzidas pelo metabolismo evolutivo que propicia a vida na Terra. Muitos dos xenobióticos e/ou seus produtos de degradação resultam em efeitos nocivos e/ou mutagênicos aos organismos vivos, podendo levar à eliminação seletiva de indivíduos e acarretar modificações na estrutura ecológica e funcional da comunidade biológica.

Por estas razões há, atualmente, uma grande preocupação em se desenvolverem biotecnologias para descontaminar ambientes poluídos por xenobióticos. Os processos biológicos de descontaminação, enquadrados na categoria de biorremediação, utilizam, geralmente, microrganismos autóctones (do próprio ambiente) ou introduzidos (em estado nativo ou geneticamente modificados) com capacidade de biodegradar xenobióticos, resultando em produtos de degradação com estrutura menos recalcitrante em relação

à molécula original, ou na mineralização do xenobiótico, produzindo compostos químicos simples, como: CO_2 , H_2O , NH_3 , SO_4^{-2} , PO_4^{-2} .

Biodegradação dos xenobióticos

O sistema metabólico que se tem mostrado mais apto para biodegradar moléculas xenobióticas recalcitrantes, nos processos de biorremediação, é o microbiano, uma vez que os microrganismos desempenham a tarefa de reciclar a maior parte das moléculas da biosfera, participando ativamente dos principais ciclos biogeoquímicos e, representando, portanto, o suporte de manutenção da vida na Terra. Esta extraordinária diversidade metabólica se deve à combinação do potencial genético individual das diferentes espécies microbianas em um sistema natural, com enzimas e vias metabólicas que evoluíram ao longo de bilhões de anos, e a capacidade de metabolismo integrado apresentada pela comunidade microbiana em conjunto: produtos do metabolismo de um microrganismo pode ser substrato para outros. Este intenso sinergismo metabólico entre microrganismos, praticamente ausente nos organismos mais complexos, é de fundamental importância na biodegradação de xenobióticos. Muitos fatores ambientais de natureza física, química e biológica influenciam na capacidade de um sistema microbiano de biodegradar uma

molécula.

Fatores físicos e químicos

Os principais parâmetros físicos que influenciam na degradabilidade são: natureza física da matriz onde o composto é encontrado (solo, água, sedimento), temperatura e luz. Por exemplo, ambientes complexos, tais como solos e sedimentos, têm a propriedade de, através da atração de cargas opostas, adsorver moléculas, diminuindo, desta maneira, a biodisponibilidade do poluente. Nas regiões temperadas do globo, a atividade metabólica de microrganismos pode ser reduzida em função das baixas temperaturas médias anuais, reduzindo, conseqüentemente, a taxa de degradação de poluentes nestas áreas.

Diversos fatores químicos podem influenciar, acelerando ou reduzindo, a taxa de degradação de um poluente. Entre estes fatores incluem-se a composição química da matriz ambiental, que define a capacidade nutritiva, o pH, umidade, teor de oxigênio dissolvido, o potencial redox do meio e a composição e estrutura química do poluente. Metais pesados, quando presentes, podem interagir com enzimas produzidas pelos microrganismos, inibindo a sua atividade e, por conseguinte, a capacidade degradativa destes. Por outro lado, concentrações adequadas de metais que têm ação de cofatores enzimáticos podem melhorar a capacidade degradativa do meio. A presença de outros compostos xenobióticos de estrutura simples pode também dificultar o metabolismo de moléculas mais complexas, pois a comunidade microbiana se direcionaria seu metabolismo para degradar, preferencialmente, os menos complexos.

Como exemplo da influência da estrutura química na degradação de um poluente, pode-se citar a alta persistência de compostos nitroaromáticos no ambiente. Apesar de intensos esforços, ainda não foram isoladas bactérias capazes de mineralizar muitos dos nitroaromáticos produzidos pelo homem, como, por exemplo, o TNT (utilizado em explosivos) e os herbicidas

orizalin e trifluralina. Os três compostos apresentam, em comum, três grupos nitro no anel aromático que dificultam sua mineralização.

Fatores biológicos

A biodegradação de um composto químico no meio ambiente depende, sobretudo, da presença de uma população de microrganismos capaz de metabolizar a molécula original e seus produtos de degradação. Não existem, na biosfera atual, rotas enzimáticas catabólicas capazes de degradar todos os compostos novos que a cultura humana sintetizou durante os últimos 100 anos. Sabe-se, entretanto, que alguns xenobióticos podem ser biodegradados por microrganismos que possuam enzimas capazes de catabolizar moléculas específicas, ou mesmo pela ação conjunta de consórcios microbianos, em que cada microrganismo atua individualmente sobre diferentes etapas do processo de biodegradação.

A biodegradação é mais provável quando a estrutura química do xenobiótico é semelhante à estrutura de moléculas naturais. Por exemplo, existe uma grande diversidade de moléculas naturais com estruturas complexas, tais como a lignina, rica em anéis benzênicos - estrutura molecular natural mais abundante na biosfera depois da glicose -, os esteróides, os terpenos e compostos halogenados naturais, que ocorrem em grande abundância e são normalmente metabolizados por microrganismos no ambiente.

As enzimas que catabolizam a degradação de compostos naturais podem apresentar baixa especificidade pelo seu substrato e, desta maneira, os xenobióticos com estrutura química semelhante a compostos naturais podem ser reconhecidos pelo sítio ativo da enzima, possibilitando, assim, que sejam quimicamente transformados. Quando o xenobiótico tem a possibilidade de percorrer todos os passos catalíticos de uma determinada rota catabólica enzimática, provavelmente ele se torna uma possibilidade nutritiva para o microrganismo, sendo os produtos de sua degradação aproveitados pelo

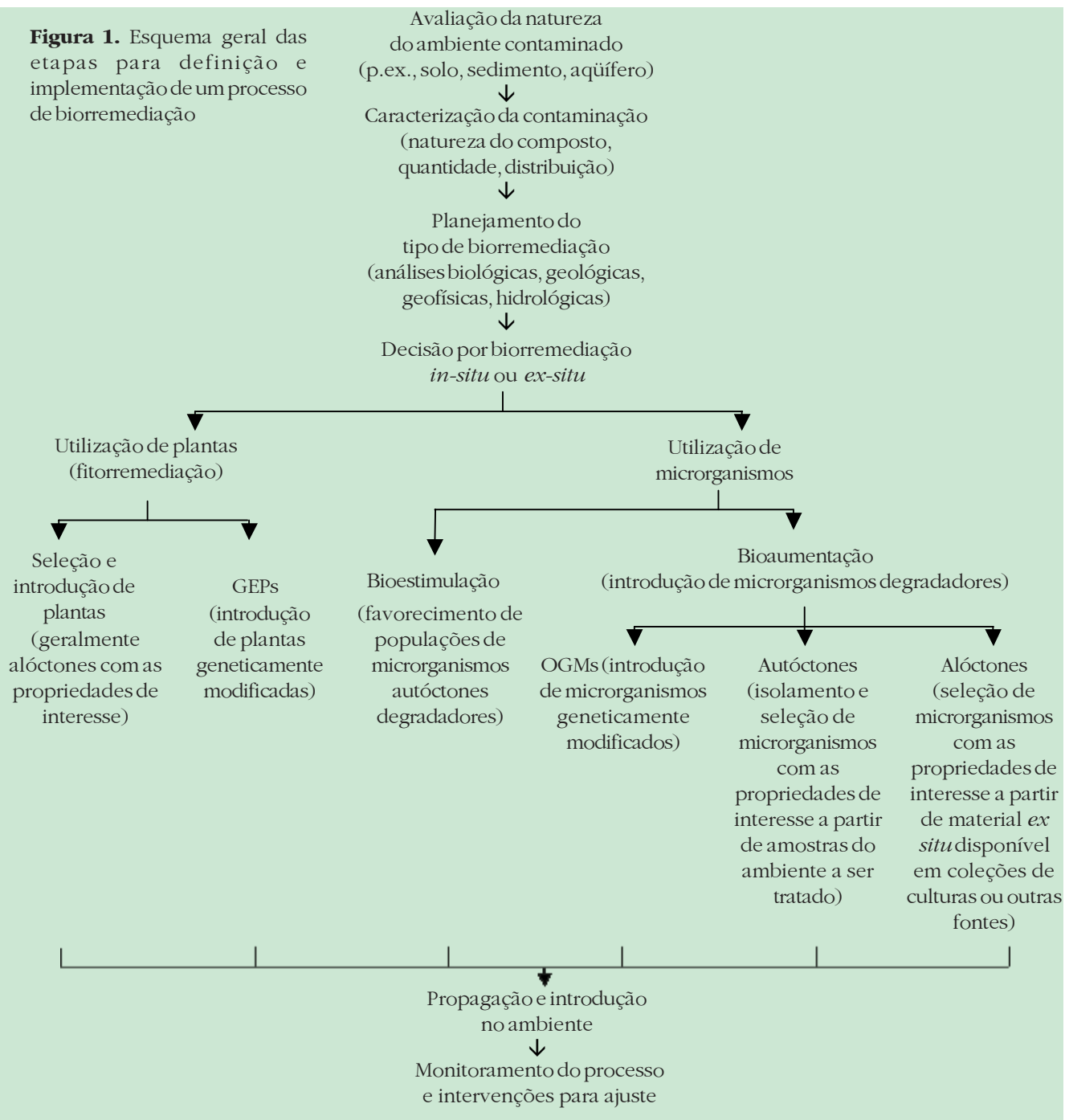
seu metabolismo construtivo e energético. Porém, quando o composto é apenas parcialmente degradado, por ação de uma ou mais enzimas de uma rota catabólica sem que o produto resultante contribua para a sobrevivência do microrganismo, esta transformação metabólica é denominada de "co-metabolismo".

O produto do co-metabolismo, muitas vezes, pode servir de substrato para transformações enzimáticas de outras espécies microbianas, possibilitando a degradação completa do xenobiótico (mineralização). O co-metabolismo, aparentemente uma transformação fútil quando analisada sob a ótica de um microrganismo isolado, tem um papel importante nas biotecnologias de remediação de sítios contaminados, pois, geralmente, nenhum microrganismo possui todas as enzimas necessárias para a metabolização completa de um xenobiótico.

Trocas de material genético podem ocorrer entre microrganismos na natureza e constituem um outro fator que contribui para o potencial biodegradador de uma comunidade. Muitas rotas catabólicas de compostos complexos estão localizadas no genoma plasmidial. Plasmídeos podem ser trocados entre bactérias de uma mesma espécie, ou mesmo entre microrganismos de espécies diferentes, através de mecanismos de conjugação ou transformação de células naturalmente competentes (células com capacidade de assimilar DNA exógeno na natureza). Estes processos de intercâmbio de material genético favorecem a disseminação de genes, e, conseqüentemente, a disseminação potencial de enzimas relacionadas ao metabolismo catabólico de uma molécula recalcitrante.

Obviamente, as características físico-químicas e nutricionais do meio externo e o compartimento intracelular microbiano estão estritamente relacionados. Mesmo que um sistema microbiano porte todos os requisitos bioquímicos e genéticos necessários para a degradação de um xenobiótico, se as características físico-químicas e componentes nutricionais do meio não condizem

Figura 1. Esquema geral das etapas para definição e implementação de um processo de biorremediação



com as necessidades metabólicas do microrganismo, a biodegradação não ocorrerá.

Visão interdisciplinar

A pesquisa técnico-científica, com o objetivo de tornar os fenômenos naturais mais facilmente compreensíveis, geralmente enfoca o estudo de parâmetros físicos, químicos e biológicos relacionados à degradação de maneira separada. Como abordado anteriormente, estes parâmetros são estritamente relacio-

nados em um processo de biorremediação. Por esta razão, a implementação de processos de remediação em um ambiente contaminado requer a condução de um estudo detalhado, com uma visão interdisciplinar, envolvendo profissionais de diferentes áreas de conhecimento, como microbiologia, bioquímica, biologia molecular, química orgânica e analítica e engenharia.

Por exemplo, é necessário um conhecimento aprofundado das características químicas da molécula

xenobiótica que se pretende eliminar em um processo de biorremediação, uma vez que a estrutura química influencia vários aspectos do metabolismo biológico. A presença de grupos químicos na estrutura molecular, como halogênios, $-\text{NO}_2$, $-\text{SO}_3\text{H}$, CN , $-\text{CH}_3$, $-\text{CF}_3$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OCH}_3$, bem como arranjos específicos destes radicais na cadeia de carbono, que interferem na distribuição eletrônica da molécula (propriedades enantioméricas ou quirais), pode dificultar a catálise enzimática, con-

ferindo à molécula maior recalcitrância. Por exemplo, os detergentes sintéticos alquilbenzeno sulfonados, comercializado nos anos 60-70, provocaram sérios impactos ambientais decorrentes de elevado grau de persistência no ambiente. Espessas camadas de espumas se acumulavam nos rios, acarretando grande mortandade de peixes. Pesquisas biológicas mostraram que a sua alta persistência no ambiente estava relacionada à presença de três grupos metilas na molécula. Um novo desenho químico da molécula, em que foram retirados os grupos metilas, permitiu o aumento da biodegradabilidade destes detergentes sintéticos, diminuindo, desta maneira, o impacto ambiental.

O grau de toxicidade de uma molécula também é relacionado com sua estrutura molecular. A estrutura molecular define o tipo e a intensidade de interação com diferentes componentes e metabólitos intracelulares (estruturas da parede e membrana celular, organelas, e estrutura terciária de proteínas e ácidos nucléicos), que podem ocasionar efeitos citotóxicos e/ou mutagênicos.

Um outro efeito importante associado à estrutura molecular que também deve ser considerado é a *biodisponibilidade* da molécula. Muitos xenobióticos têm caráter apolar, o que muitas vezes não é compatível com sítios de entrada e transportadores da membrana celular, indisponibilizando-o, desta maneira, para o metabolismo intracelular. Alguns microrganismos contornam este obstáculo produzindo surfactantes e possibilitando, assim, a entrada de moléculas apolares para o interior da célula. A busca de biosurfactantes que possam ser utilizados como aditivos em solos contaminados com compostos pouco solúveis é hoje uma das linhas com grande desenvolvimento em pesquisas de biorremediação.

Outro aspecto a ser analisado é a composição química do ambiente, a qual contribui para definição do valor nutritivo do meio. Quando o meio não fornece macro e micronutrientes necessários para o

metabolismo celular dos microrganismos degradadores, é necessária a adição controlada destes ao sistema, por meio do emprego de técnicas de engenharia, como, por exemplo, a injeção de nutrientes via galerias e/ou buracos no solo e uso de formulações de liberação lenta nos ambientes aquáticos. Como consequência destas adições, a taxa de degradação pode ser aumentada.

Técnicas de aplicação de nutrientes têm se mostrado eficientes para a despoluição de ambientes aquáticos contaminados com petróleo. Experimentos de campo demonstraram um aumento de 5 a 10 vezes nas taxas de degradação. No entanto, existem dúvidas sobre os efeitos a longo prazo, uma vez que as taxas de degradação em áreas tratadas e não-tratadas tendem a se equalizar com o tempo. A introdução de nutrientes e/ou surfactantes com o objetivo de aumentar a atividade microbiana ou a biodisponibilidade do poluente é um tipo de biorremediação conhecido como *bioestimulação*.

Outra opção que pode ser adotada para se melhorar o potencial biodegradador de um ambiente contaminado é a adição de populações de microrganismos degradadores autóctones (que já presentes naquele ambiente), ou de organismos degradadores ou mediadores de biodegradação (e.g. produtores de biosurfactantes) estranhos ao sistema (alóctones), repicados em laboratório. A utilização de técnicas para se aumentar populações microbianas degradadoras é denominada de *bioaugmentação*.

Portanto, cada processo de biorremediação é particular e quase sempre necessita de uma adequação e de uma otimização específica para aplicação em diferentes sítios afetados, requerendo sempre uma análise integrada de parâmetros físicos, químicos e biológicos.

Etapas de implementação de um processo de Biorremediação

A biorremediação é uma tecnologia complexa e sua

implementação ocorre em etapas que compreendem um estudo do ambiente, do tipo de contaminante, dos riscos e da legislação pertinente (Figura 1). Em primeiro lugar, é necessário uma caracterização do tipo e da quantidade do poluente, bem como avaliações de natureza biológica, geológica, geofísica e hidrológica do sítio contaminado.

As avaliações biológicas ocorrem, em primeira estância, em laboratório, e têm como objetivo a otimização da biodegradação do composto. Elas compreendem os testes de *bioestimulação*, pela adição de nutrientes e/ou surfactantes, e os testes de *bioaugmentação*, pela adição de culturas de microrganismos biodegradadores ou mediadores. Com base nos dados obtidos é, então, escolhida a técnica de biorremediação mais adequada para a situação e testes de campo são realizados, para verificar a eficiência do processo *in situ*.

Porém, devido à complexidade desta biotecnologia, cuja eficiência envolve vários fatores, muitos problemas de difícil equacionamento podem surgir no decorrer do processo. Entre os principais problemas encontrados na aplicação de processos de biorremediação estão:

- a poluição geralmente envolve vários compostos, de diferentes classes químicas, requerendo a seleção e utilização de diferentes microrganismos com metabolismo específico para os diferentes poluentes;
- quando as concentrações dos poluentes são baixas, os microrganismos podem não produzir as enzimas necessárias; quando são muito altas, os microrganismos podem ser inibidos;
- alguns dos poluentes presentes podem ser incompatíveis com o processo de biodegradação implementado;
- alguns compostos são rapidamente adsorvidos pelo solo, sedimento e/ou água, diluindo-se abaixo do nível exigido para a ativação da biodegradação, contudo permanecendo ainda em concentrações acima da desejável;
- a taxa da biorremediação pode ser muito baixa, resultando em um

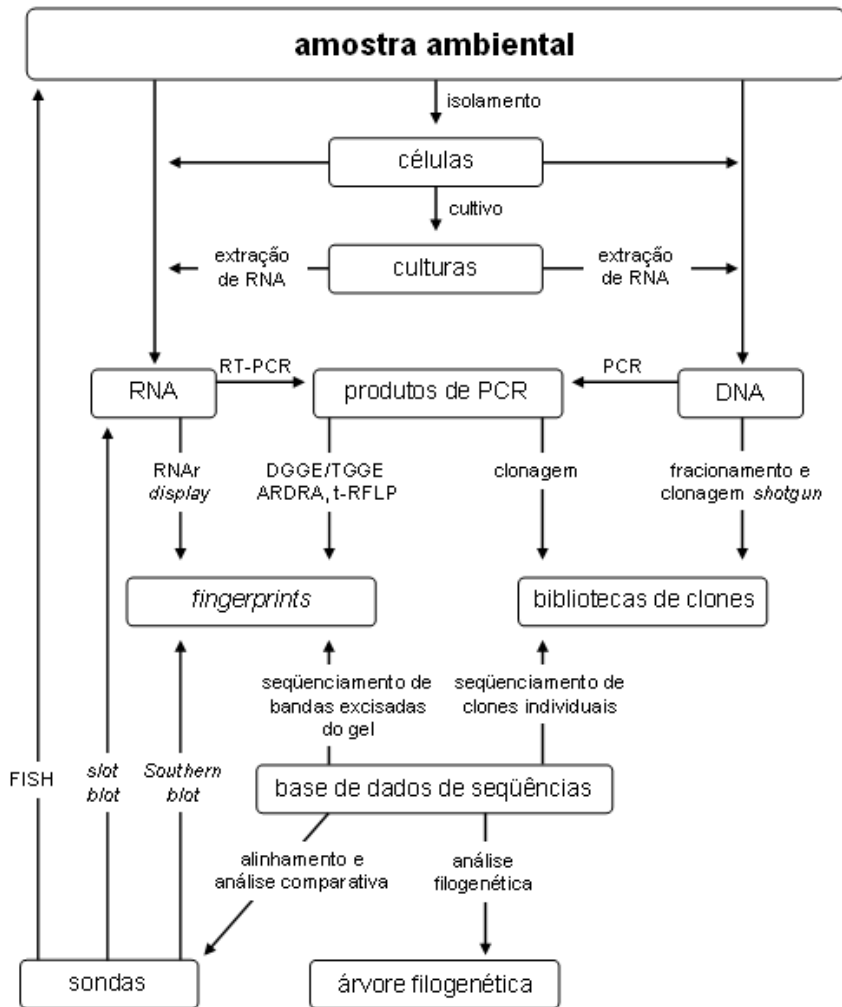


Figura 2. Possíveis estratégias de trabalho para detecção, monitoramento e caracterização da diversidade em amostras ambientais utilizando abordagens tradicionais e independentes-de-cultivo (adaptado de diferentes fontes).

processo de longa duração.

Alguns dos problemas acima relatados podem ser superados através do uso de microrganismos geneticamente modificados, os OGMs (*Genetically Engineered Microorganisms*, ou GEMs, em inglês).

OGMs na despoluição ambiental

O uso de organismos-geneticamente-modificados (OGMs) oferece a possibilidade de se contornar algumas das limitações dos processos de biorremediação, principalmente as relacionadas à taxa da degradação do poluente. A manipulação genética de um microrganismo pode permitir o aumento da taxa de degradação através de diferentes estratégias:

- inserção de genes que codificam enzimas catabólicas específicas para a molécula-alvo;

- inserção de genes que conferem resistência a compostos inibitórios no ambiente ou aos produtos de degradação da molécula-alvo;

- inserção de genes ou alterações genéticas que auxiliam na solução de problemas ligados à baixa concentração do poluente, como, por exemplo, aumento da captação/absorção do composto pela célula ou da expressão da enzima.

A incorporação destes genes em uma bactéria geralmente é feita via plasmídios ou transposons, e pode resultar na manutenção do DNA exógeno na forma de plasmídio ou na inserção dos genes no cromossomo bacteriano.

Os primeiros OGMs a serem aplicados na despoluição do ambiente foram as bactérias recombinantes desenvolvidas por Chakrabarty, nos anos 70. Através de sucessivas

recombinações entre cepas com diversos plasmídeos, foram obtidas várias linhagens de bactérias capazes de degradar mais de um tipo de hidrocarboneto. A mais conhecida foi a capaz de degradar cânfora, naftalina, octano e xileno.

Obviamente, a produção de uma bactéria capaz de degradar múltiplos poluentes em laboratório não significa a resolução completa dos problemas da biorremediação. Muitos questionamentos de ordem técnica e ética necessitam ser respondidos:

- os organismos sobreviverão no ambiente?
- eles se reproduzirão?
- eles se espalharão para outros locais?
- causarão danos ao ambiente?
- transferirão os genes para outros organismos no ambiente?

A seguir serão examinadas essas questões.

Sobrevivência

Microrganismos modificados em laboratório podem ser selecionados para apresentarem baixa competitividade com o objetivo de serem eliminados ou, ainda, para perderem as características especiais de recombinação após um certo tempo de vida, sendo, assim, pouco competentes para sobrevivência no ambiente natural.

No entanto, um dos problemas principais dos OGMs é a instabilidade de seus genes exógenos, principalmente quando inseridos em forma de plasmídios. Quando esta instabilidade é devido à segregação deficiente, ou seja, parte da população gerada após um ciclo de divisão celular pode não ter o plasmídio, o problema pode ser superado com a inserção dos genes de interesse no cromossomo bacteriano, mediante o uso de transposons. Entretanto a inserção de novos genes no cromossomo de um microrganismo pode ter efeitos inesperados, como interferência na regulação de outras vias metabólicas, acarretando, por exemplo, o aumento da produção de toxinas ou inativação da expressão de outras propriedades de interesse.

Multiplicação no local

Quando o poluente é o único substrato para crescimento microbiano, a multiplicação das células terminará na presença de baixos níveis do mesmo. Esta é uma boa maneira de controlar a população de OGMs no ambiente. Contudo os microrganismos podem perder a atividade antes que a concentração do poluente atinja o nível desejado. Este problema pode ser superado com engenharia genética, utilizando promotores induzidos pela deprivação de nutrientes. Como exemplo, podemos citar os genes T4MO (tolueno 4-monoxigenase) de *Pseudomonas mendocina* KR1, que foram clonados sob o controle do gene *groEL*. A bactéria geneticamente modificada promoveu, nas mesmas taxas, a degradação de tolueno, fenol e tricloretileno sob condições adequadas e sub-ótimas de glicose, nitrogênio e fósforo.

Riscos e dispersão dos OGMs no ambiente

Quais são os efeitos indesejáveis da liberação de OGMs no meio ambiente? Sem dúvida, conhecer os efeitos indesejáveis da inserção de organismos vivos geneticamente modificados na natureza é uma das metas mais importantes da comunidade científica atual. Entre os efeitos mais questionados estão:

- competição do OGM com a microbiota, flora e fauna local, podendo levar à extinção destas espécies nativas;
- a troca de genes entre microrganismos geneticamente modificados e populações microbianas autóctones, já cientificamente comprovada, pode levar à degradação genética das espécies autóctones;
- a possibilidade de introdução ao ambiente de espécies que apresentem fatores de patogenicidade para a população autóctone, espécies que produzem endo-e/ou exotoxinas ou que contenham genes de resistência a antibiótico; esta é uma situação que deve de ser avaliada em laboratório antes da liberação dos microrganismos no ambiente;
- o desequilíbrio da estrutura da comunidade, podendo levar à de-

gradação ambiental;

- a impossibilidade da eliminação dos microrganismos introduzidos depois que eles terminam o seu trabalho.

Grande parte destes efeitos poderiam ser contornados através do isolamento físico dos OGMs, ou seja, pelo confinamento do sítio contaminado durante o tratamento com OGMs. Porém surge uma nova questão: É possível o isolamento físico dos OGMs?

Microrganismos têm uma grande capacidade de disseminação, sendo capazes de se espalhar através do solo, na água, no vento, por colonização ou adsorção a outros seres vivos, incluindo microrganismos (protozoários, algas), pequenos animais, raízes e sementes de plantas. Por estas razões, é razoável que a resposta desta pergunta seja: “Provavelmente, na maioria dos casos, é impossível o isolamento de OGMs”. Em vista disso, é necessário que o microrganismo seja construído de maneira que seus efeitos no meio ambiente sejam mínimos e/ou seu tempo de sobrevivência seja limitado.

Avanços científicos, contudo, sugerem que OGMs no ambiente não trazem necessariamente efeitos insuperáveis. No ano 1993, no Horticultural Research International de Littlehampton, e no Institute of Virology and Environmental Microbiology de Oxford, no Reino Unido, uma linhagem de *Pseudomonas fluorescens* cromossomalmente modificada foi aplicada em sementes do trigo e vaporizada nas folhas emergentes. As conclusões das investigações foram as seguintes:

- a vaporização não causou grande espalhamento do OGM nas áreas locais adjacentes aos locais de aplicação;
- *P. fluorescens* normal e recombinante causaram mudanças temporárias (de até 69 dias) na microbiota do filoplano e na rizosfera das plantas inoculadas, mas não no restante do solo, e os microrganismos mais sensíveis foram os não-formadores de esporos de cresci-

mento rápido;

- as mudanças produzidas pela introdução da linhagem recombinante não foram diferentes daquelas causadas pela não-recombinante;
- as perturbações foram pequenas, sem efeitos para o crescimento e/ou saúde das plantas.

Mesmo que estes resultados sugiram que o ambiente não tenha sido significativamente alterado, é sempre recomendado, diante das poucas evidências experimentais e práticas existentes, limitar o espaço e o tempo de vida dos OGMs. Devido à quase impossibilidade do confinamento físico dos OGMs, pesquisas, hoje, sugerem que o próprio DNA do microrganismo porte em seu código o limite de espaço físico e de tempo de vida. Por exemplo, estes atributos são contemplados quando os OGMs são construídos para sobreviverem somente em condições de poluição ou, ainda, até que um evento específico, geneticamente projetado, ocorra na fisiologia do microrganismo ou no ambiente. Um exemplo de evento geneticamente projetado é o uso dos *elementos suicidas*, tais como o gene *hok*, que controla a produção de uma proteína “killer” (assassina) nas células, ativada pela ausência de poluente. O problema do uso deste gene suicida é que pode sobreviver até 1 em 10⁴ células por geração, devido às taxas de mutações normais em estirpes suicidas negativas. Utilizando-se um sistema suicida de 2 componentes (cada um dos quais codifica um mecanismo suicida diferente), a taxa de sobrevivência cai para 10⁻⁷ a 10⁻⁸ células/geração. Entretanto, esta taxa de sobrevivência ainda pode ser considerada elevada, em função das densidades que as populações introduzidas no ambiente podem atingir. Cálculos mostram que um nível de confinamento satisfatório é atingido somente quando os organismos modificados carregam 8 mecanismos suicidas separados, cada qual com um tipo de controle diferente.

Contudo, um outro problema surge. Pesquisas mostram que o DNA, de OGMs ou, mesmo, o liberado após a morte das células podem ser

transferidos para outras células

Transferência de genes e seu controle

Os microrganismos podem transferir DNA através dos processos de conjugação (transferência de plasmídios entre células), transdução (transferência mediada por vírus) e transformação (entrada de DNA do meio em células competentes). São processos naturais, cujos mecanismos não cabem nos objetivos deste capítulo. Entretanto, cabe ressaltar que existe a possibilidade desta transferência de DNA e, conseqüentemente, dos genes de degradação ou controle, entre os OGMs e os microrganismos naturalmente presentes no ambiente.

Para evitar transferências de genes dos OGMs para populações autóctones, cientistas têm desenvolvido estratégias moleculares, como, por exemplo, vetores suicidas de confinamento que não permitem a replicação ou causam a destruição do DNA após serem transferidos para outros microrganismos.

Uma outra possibilidade para evitar a transferência de genes indesejados é optar pela utilização de genes marcadores ou reguladores que não representem riscos de danos ao ambiente. Por exemplo, genes de resistência a antibióticos, comumente utilizados como marcadores de OGMs, podem ser substituídos por genes marcadores de resistência a sais de Hg, arsenito, telurito, herbicidas, ou outros marcadores que não apresentem risco ambiental.

Deteção de microrganismos e genes de degradação no ambiente

A introdução de microrganismos, sejam eles OGMs ou não, e/ou a utilização de estratégias que favoreçam o aumento de populações microbianas específicas em um dado ambiente para fins de biorremediação requer, necessariamente, a adoção de práticas de monitoramento microbiológico voltadas para a deteção e/ou quantificação de microrganismos e/ou dos genes intro-

duzidos no ambiente. Este tipo de prática pode visar diferentes objetivos, ligados direta ou indiretamente à atividade de degradação desejada:

- quantificar a população dos microrganismos de interesse, ligados ao processo de degradação do poluente ou xenobiótico;
- avaliar a disseminação de OGMs e não-OGMs introduzidos no ambiente;
- avaliar a possibilidade de transferência dos genes para comunidades microbianas locais, e, ainda;
- fornecer informações valiosas para avaliação de possíveis impactos ambientais da introdução ou do favorecimento de populações específicas, refletido em alterações na composição e estrutura de comunidades microbianas naturais do sítio.

Diferentes estratégias podem ser adotadas para a realização destes monitoramentos. Os métodos experimentais utilizados podem ser divididos, basicamente, em dois grandes grupos, de acordo com a abordagem que é empregada:

• **métodos baseados em isolamento e cultivo:** o monitoramento é realizado utilizando-se protocolos convencionais de microbiologia, baseados no isolamento dos microrganismos da amostra ambiental e inoculação em meios de cultivo seletivos e/ou não-seletivos, avaliando os resultados através do crescimento de colônias em placas de Petri ou em ensaios de diluição utilizando tubos múltiplos, e;

• **métodos independentes-de-cultivo:** o monitoramento de linhagens microbianas e/ou de grupos microbianos específicos na amostra é realizado através da análise de células e/ou ácidos nucléicos extraídos da amostra, utilizando-se sondas moleculares para genes determinados ou a amplificação destes por metodologias de PCR.

Dependendo da estratégia de biorremediação utilizada, do tipo de amostra e ambiente alvo, os métodos de cultivo podem ser facilmente empregados e fornecer parâmetros adequados para avaliação das populações de microrganismos biodegradadores e aspectos gerais das populações microbianas na amos-

tra. No caso de sítios e estratégias de biorremediação onde populações microbianas altamente diversificadas são favorecidas (alta diversidade de espécies envolvidas no processo), onde existam fatores limitantes ao cultivo, como presença de compostos recalcitrantes altamente tóxicos ou amostras de difícil coleta e manipulação (subsolo, aquíferos profundos, resíduos industriais tóxicos), em casos onde os OGMs introduzidos não são diferenciáveis de populações naturais por cultivo, os métodos baseados em isolamento e cultivo não são adequados para o monitoramento. Nestes casos, o uso de métodos independentes-de-cultivo podem representar uma alternativa mais eficaz e eficiente para o monitoramento.

Os métodos independentes-de-cultivo, por sua vez, permitem a deteção e monitoramento tanto dos microrganismos específicos como dos genes de degradação relacionados ao processo de biorremediação. Dentre os métodos mais utilizados para deteção específica de microrganismos e genes podemos citar a hibridização com sondas moleculares em ensaios de FISH (*fluorescent in situ hybridization*) ou em membrana de nylon (*dot blot*), e a amplificação dos genes-alvo em reações de PCR.

Uma representação de diferentes possíveis estratégias e metodologias que podem ser empregadas em um estudo de populações microbianas em amostras ambientais é apresentada na Figura 2. O detalhamento destes métodos e apresentação de protocolos não são objetos deste capítulo. Porém, como estes são amplamente difundidos, é fácil a localização de trabalhos na literatura que relatam a aplicação de diferentes estratégias moleculares ao estudo de processos de biorremediação.

Algumas estratégias e metodologias independentes-de-cultivo podem ser utilizadas para uma caracterização fina das comunidades microbianas presentes na amostra e populações específicas. A amplificação de genes ribossomais utilizando iniciadores (*primers*) grupo- ou es-

pécie-específicos permite a visualização de padrões de bandas representativos da comunidade estudada em análises eletroforéticas, como no caso do DGGE/TGGE (*denaturing gradient gel electrophoresis* e *thermal gradient gel electrophoresis*), métodos que permitem a separação de fragmentos de mesmo tamanho, porém com seqüências gênicas diferentes, e do ARDRA (*amplified ribosomal DNA restriction analysis*) ou t-RFLP (*terminal fragment length polymorphism*), métodos que permitem a diferenciação de microrganismos nas amostras pela análise do padrão de bandas gerados por restrição enzimática do DNA amplificado.

Por outro lado, a construção de bancos genômicos, produzidos a partir da clonagem dos fragmentos de genes ribossomais (ou de outros genes de interesse, incluindo genes codificadores de enzimas de vias catabólicas), amplificados por PCR, permite a geração de material para seqüenciamento de DNA e análise posterior filogenética de seqüências de DNA ribossomal e proteínas.

A aplicação de métodos moleculares geralmente implica em custos mais elevados, comparado com a utilização de protocolos tradicionais baseados em isolamento em cultivo. Contudo, métodos independentes-de-cultivo permitem a geração de dados com elevado conteúdo de informação e de natureza complementar aos métodos microbiológicos tradicionais, possibilitando a detecção e quantificação de OGMs e microrganismos não-modificados também pela presença dos genes de degradação no DNA e pelo nível de atividade metabólica (quantidade de RNA intracelular) presente na célula. Na Figura 2 observa-se relacionamento entre as técnicas que podem ser utilizadas nos estudos tradicionais e moleculares de amostras ambientais.

Referências Bibliográficas

Alexander, M. (1999). **Biodegradation and bioremediation**. 2nd

ed. New York: Academic Press. 453 pp.

Amann, R.I.; Krumholz, L.; Stahl, D.A. (1990). **Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology**. *Journal of Bacteriology* v.172, p. 762-770.

Amann, R.I.; Ludwig W.; Schleifer, K.H. (1995). Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological Reviews** v.59 (1), p. 143-169.

Atlas, R.M.; Bartha, R. (1998). **Microbial ecology**. 4th ed. Menlo Park: The Benjamin/Cummings. 533 pp.

Borém, A.; Santos, F.R. (2004). Biorremediação. In: Borém A.; dos Santos, F.R. (Eds) **Biotecnologia simplificada**. Universidade Federal de Viçosa/MG, p. 179-187.

Crawford, R.L. (Eds). (2002). Bio-transformation and biodegradation. Section VIII. In: Hurst, C.J.; Crawford, R.L.; Knudsen, G.R.; McInerney, M.J.; Stetzenbach, L.D. (Eds.) **Manual of environmental microbiology**. 2nd ed. ASM Press, Washington DC. p. 898-1094.

Fernandes, F.M. (1998). Bioremediation – State of the art. In: **Third Latin American Biodegradation & Biodeterioration Symposium**. Florianópolis, 27-30 Abril.

Glazer, A.N.; Nikaido, H. (1995). **Microbial biotechnology**. New York: W.H. Freeman. 662 pp.

Grimberg, S.J.; Aitken, M.D. (1995). Biodegradation of phenanthrene solubilized in surfactant micelles. In: Hinchee, R.E.; Brockman, F.J.; Vogel, C.M. **Microbial process for bioremediation**. Columbus: Battelle Press. p. 59-66.

Leung, K.; Errampalli, D; Cassidy, M.; Lee, H.; Trevors, J.T.; Okamura, H.; Bach, H.J.; Hall, B. (1997). A case study of bioremediation of

polluted soil: biodegradation and toxicity of in soil. In: van Elsas, J.D.; Trevors, J.T.; Wellington, E.M.H. (Eds.). **Modern soil microbiology**. Marcel Dekker, New York. p. 577-605.

Melo, I.S.; Azevedo, J.L. (1997). **Microbiologia ambiental**. Embrapa-CNPMA. 440 pp.

Melo, I.S.; Souza Silva, C.M.M. (2003). Biorremediação de solos poluídos. In: Borém, A.; Santos, F.R.; Almeida, M.R. (Eds.). **Biotecnologia de A a Z**. Universidade Federal de Viçosa/MG, p. 95-125.

Spain, J.C.; Hughes, J.B.; Knackmuss, H.-J. (2000). **Biodegradation of nitroaromatic compounds and explosives**. New York: Lewis Publishers. 434 pp.

Spilborghs, M.C.F.; Casarini, D.C.P. (1998). Biorremediação do solo contaminado com compostos orgânicos. **Revista Meio Ambiente Industrial** v. 12, maio-junho, p. 66-69.

Trevors, J.T.; van Elsas, J.D. (Eds.) (1995). **Nucleic acids in the environment: methods and applications**. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. 256 pp.

Whyte, L.G.; Bourbonnière, L.G.; Bellerose, C.G.; Greer, C.W. (1999) Bioremediation assessment of hydrocarbon-contaminated soils from the high Arctic. **Bioremediation Journal**, v. 3, n. 1, p. 69-79.

Yarden, O.; Salomon, R.; Katan, J.; Aharonson, N. (1990). Involvement of fungi and bacteria in enhanced and nonenhanced biodegradation of carbendazim and other benzimidazole compounds in soil. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 15-23.

Zarda, B.; Hahn, D.; Chatzinotas, A.; Schönhuber, W.; Neef, A.; Amann, R.; Zeyer, J. (1997). **Analysis of bacterial community structure in bulk soil by *in situ* hybridization**. *Archives of Microbiology* v. 168, p. 185-192.



FUNDAMENTOS DA ANÁLISE DE RISCO

Conceitos em Análise de Risco ecológica e para a saúde humana

Luiz Roberto Guimarães Guilherme

Professor Adjunto, Universidade Federal de Lavras,
Departamento de Ciência do Solo, Lavras, MG
Pesquisador Bolsista do CNPq
guilberm@ufla.br

Imagens cedidas pelo autor

Introdução

Este artigo apresenta alguns fundamentos a respeito do que venha a ser a análise de risco e de como esta ferramenta pode ser usada. Antes, porém, é necessário tornar clara a diferença entre o que é o “risco” e o que é o “perigo”. Frequentemente, há confusão relativa ao significado destes termos. Risco é a probabilidade e a intensidade de dano (por exemplo, doença) resultante da exposição a um perigo. Em contraste, o perigo é um agente (físico, químico ou biológico) ou uma ação que pode causar dano. Por exemplo, doenças humanas têm sido associadas à ingestão de alimentos contaminados com alguns elementos-traço, e.g., o chumbo. O perigo é o chumbo (nas suas mais diversas formas), uma substância (agente) química. O risco representa a quantidade de pessoas que estão ou que podem ser afetadas de uma forma danosa, dentro do conjunto da população como um todo, informação esta advinda de uma avaliação de risco. Esta distinção é apresentada com mais detalhes no item *Avaliação de riscos para a saúde humana* deste artigo.

O que vem a ser, então, a análise de risco, e para que finalidade ela é usada? A análise de risco é um processo composto de três partes: avaliação de risco, gerência de risco e comunicação do risco. É usada para avaliar os dados científicos, comparar e selecionar as políticas de ação disponíveis e comunicar toda a informação obtida no intuito de prevenir ou controlar riscos não desejados.

Cada um destes elementos da análise de risco tem um papel distinto.

Os elementos da análise de risco são usados por um agente regulador qualquer (de saúde pública ou do meio ambiente) na tomada de decisões para prevenir ou controlar riscos. Neste contexto, é importante ressaltar que todas as nossas decisões do dia-a-dia - independentemente se foram tomadas por um indivíduo, um agente regulador ou uma indústria, por exemplo - acontecem a partir de uma “análise de risco”. A única diferença é o nível de complexidade que é necessário para se tomar uma decisão após a análise de cada caso.

Conceitos envolvidos na análise de risco

O problema já previamente levantado com relação à terminologia “risco” e “perigo” tem levado a uma série de discussões sobre o uso seguro de substâncias químicas, visto que usos os mais diversos têm sido dado a estes termos. No intuito de estabelecer um consenso acerca dos termos (e de seus usos) envolvidos no processo de avaliação de risco, constituiu-se um grupo de trabalho dentro do Programa Internacional de Segurança Química da Organização para a Cooperação Econômica e Desenvolvimento (IPCS/OECD), o qual iniciou os trabalhos de padronização de terminologia (Lewalle, 1999) que resultaram então numa publicação posterior a este respeito (Duffus, 2001). Os conceitos apresentados a seguir advêm de uma

tentativa de se adaptar a terminologia descrita na língua inglesa para o português. Os termos considerados orientadores das ações, conforme descrito no artigo original (Duffus, 2001), são apresentados no corpo desse artigo. Alguns outros termos considerados básicos dentro do contexto da avaliação de risco são descritos no glossário da publicação editada por Borém (2004).

A associação dos diferentes termos descritos a seguir foi estabelecida através de um diagrama conceitual, o qual é mostrado na figura 1.

Antes de iniciarmos a discussão dos termos descritos no diagrama em si, cabe ressaltar a distinção que é feita no trabalho de Duffus (2001) entre as expressões “análise” e “avaliação”. A *análise* consiste no exame detalhado de algo complexo, feito com a finalidade de entender sua natureza ou determinar suas características essenciais. A *avaliação* é descrita como sendo a combinação de análise de fatos e da inferência de possíveis conseqüências concernentes a um objeto particular. Neste contexto, são destacados dois termos de uso freqüente em avaliação de risco, mas que não fazem parte do diagrama da figura 1, quais sejam:

- *Indicador ou ponto final da avaliação* (do inglês, *endpoint*): expressão quantitativa de um fator específico a que um risco pode estar associado, conforme determinado por uma avaliação de risco apropriada.

- *Fator de avaliação*: ajuste numérico usado na extrapolação de relações de dose-resposta determinadas experimentalmente, para se estimar o nível de exposição a uma substância acima do qual efeitos adversos podem acontecer.

Avaliação do perigo

A *avaliação do perigo* é o processo designado para determinar quais são os fatores que contribuem para os possíveis efeitos adversos de uma substância à qual uma população humana ou um compartimento ambiental poderiam estar ou estão expostos. O processo inclui três pas-

sos: identificação do perigo, caracterização do perigo e levantamento do perigo (Figura 1). Os fatores acima referidos podem incluir mecanismos de toxicidade, relações de dose-efeito e dose-resposta, variações na suscetibilidade do alvo, etc.

- *Identificação do perigo*: a primeira fase da *avaliação do perigo*, que consiste na determinação das substâncias de interesse e dos efeitos adversos inerentes que elas podem estar causando a sistemas alvo sob certas condições de exposição, levando em conta dados sobre sua toxicidade. (Nota: as definições podem variar na sua formulação, dependendo do contexto. Assim, no contexto da *avaliação de risco*, a *identificação de risco* consiste na primeira fase onde são determinados os perigos particulares a que um determinado sistema alvo pode estar exposto, incluindo dados de toxicidade associados).

- *Caracterização do perigo*: o segundo passo no processo de *avaliação do perigo*, consistindo na descrição qualitativa e, quando for possível, quantitativa, da natureza do perigo associado com um agente biológico, químico ou físico, baseado em um ou mais elementos, como mecanismos de ação envolvidos, extrapolação biológica, relações de dose-resposta e dose-efeito e as suas respectivas incertezas associadas.

- *Levantamento do perigo*: o terceiro passo no processo que tem por finalidade a determinação da relação qualitativa e quantitativa existente entre exposição a um perigo sob certas condições, incluindo as incertezas associadas, e o resultante efeito adverso.

Avaliação de risco

A *avaliação de risco* é o processo cujo objetivo é calcular ou estimar o risco que possa existir para um determinado sistema alvo em decorrência da sua exposição a uma substância particular, levando-se em conta as características inerentes da substância em questão, assim como também as características do sistema alvo específico. O processo inclui quatro passos: identificação do peri-

go, avaliação da dose-resposta, avaliação da exposição e caracterização do risco (Figura 1). É também o primeiro passo dentro da *análise de risco*.

- *Identificação do perigo*: a primeira fase na *avaliação de risco*, consistindo na determinação dos perigos particulares a que um determinado sistema alvo pode estar exposto, incluindo dados de toxicidade associados: (Nota: vide definição alternativa no contexto da *avaliação do perigo*).

- *Avaliação da dose-resposta*: o segundo dos quatro passos da *avaliação de risco*, que consiste na análise da relação entre a quantidade total de um agente que é absorvida por um grupo de organismos e as mudanças desenvolvidas no grupo em reação a este agente, assim como inferências derivadas de tal análise com respeito à população inteira.

- *Avaliação da exposição*: passo da *avaliação de risco* que consiste em uma análise quantitativa e qualitativa da presença de um agente (incluindo seus derivados) em um determinado ambiente e a inferência das possíveis conseqüências que ele pode ter para uma determinada população de interesse particular.

- *Caracterização do risco*: integração das evidências, dos argumentos e das conclusões coletadas nas fases de identificação do perigo, avaliação da dose-resposta e avaliação da exposição, e estimativa da probabilidade, incluindo as incertezas a esta associada, de ocorrência de um efeito adverso se um agente é administrado, ingerido ou absorvido por um organismo particular ou uma população. É o último passo da *avaliação de risco*. (Nota: na avaliação de risco ecológico, a avaliação da dose-resposta é substituída pela avaliação da concentração-resposta, ou, então, é feita uma estimativa qualitativa e, ou, quantitativa, incluindo as incertezas a ela associadas, da severidade e da probabilidade de ocorrência de efeitos adversos conhecidos e potenciais de uma substância em uma determinada população).

Ainda dentro do contexto da avaliação de risco, procura-se definir o *risco aceitável*, que é aquele risco

tal em que os benefícios derivados para um organismo, uma população ou um sistema ecológico excedem em valor os efeitos adversos que poderiam resultar da exposição a um agente particular.

Gerência de risco

A gerência de risco constitui-se no processo de tomada de decisão que envolve a consideração de fatores políticos, sociais, econômicos e técnicos, bem como informação relevante proveniente da avaliação de risco pertinente a um perigo, no intuito de desenvolver, analisar e comparar opções regulatórias e não regulatórias e ainda selecionar e implementar as melhores decisões e ações para assegurar a segurança contra aquele perigo. Essencialmente, a gerência de risco é a combinação de três passos: avaliação do risco-benefício, controle de emissão e exposição e, finalmente, o

monitoramento do risco (Figura 1). No passo intermediário (controle de emissão e exposição), a expressão *controle* é usada mais num sentido geral do que com conotação regulatória.

- *Avaliação do risco-benefício*: estabelecimento de uma relação qualitativa ou quantitativa entre riscos e benefícios, envolvendo o processo complexo de determinar a importância dos perigos identificados e dos riscos estimados para aqueles organismos ou pessoas interessados ou afetados. É o primeiro passo dentro da *gerência de risco*.

- *Monitoramento do risco*: processo de acompanhamento interno das decisões e ações para averiguar se a redução ou contenção de risco relativo a um perigo particular está assegurada.

prévia de alguns de seus termos associados, a *análise de risco* é então descrita por Duffus (2001) como sendo o processo usado para controlar situações onde populações ou sistemas ecológicos poderiam estar expostos a um perigo. Normalmente inclui três passos, quais sejam, a avaliação de risco, a gerência de risco e a comunicação do risco (Figura 1). Os termos *avaliação de risco* e *gerência de risco* já foram previamente definidos, restando apenas a definição a seguir:

- *Comunicação do risco*: troca interativa de informação sobre riscos entre avaliadores de risco, gerentes, imprensa, grupos interessados e o público em geral.

Entendendo melhor a avaliação de risco

Após apresentarmos uma tentativa de padronização de terminologia envolvendo a avaliação e a análise de risco, procura-se, nos tópicos a seguir, abordar com mais detalhes alguns aspectos da avaliação de risco de *persi*. O enfoque desta discussão é basicamente o mesmo adotado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, em documentos conceituais relacionados a este assunto (USEPA, 1998; 1992a,b,c). Adicionalmente, procurou-se também inserir recomendações advindas de relatório específico sobre o assunto, editado pela Agência Ambiental Européia (Fairman et al., 1999).

A avaliação de risco tem se tornado uma ferramenta analítica importante na tomada de decisão ambiental. Ela pode ser definida como a identificação de efeitos adversos potenciais a humanos ou a ecossistemas que resultam da exposição a perigos ambientais. O risco envolvido (dano, infecção, *deficits* funcionais ou morte) pode ser expresso em condições quantitativas ou qualitativas. Conforme já descrito anteriormente, o processo de avaliação de risco para a saúde humana frequentemente envolve os passos seguintes:

1. *Identificação de perigo* - determinação se um poluente afeta

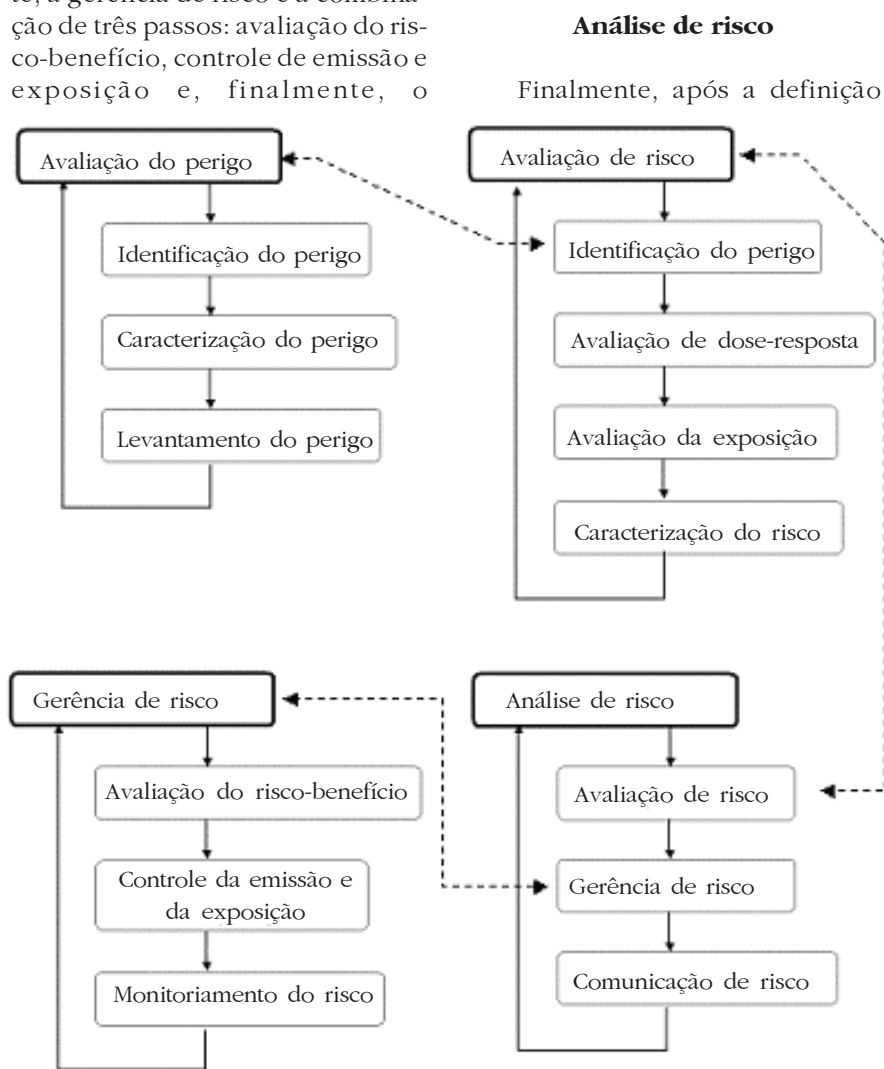


Figura 1. Diagrama conceitual envolvendo as várias etapas da análise de risco. Fonte: Adaptado de Duffus (2001).

adversamente a saúde humana;

2. *Avaliação de dose-resposta* - determinação da relação entre o nível de exposição e a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos;

3. *Avaliação da exposição* - determinação da extensão de exposição;

4. *Caracterização do risco* - descrição da natureza e, freqüentemente, da magnitude do risco, incluindo as incertezas acompanhantes.

O fato de pode acontecer simultaneamente a exposição a muitos perigos potenciais e em magnitude variada faz com que o processo de avaliação de risco seja complexo. A avaliação de risco emprega um processo de avaliação sistemático para determinar se um perigo existe e que risco ele poderia representar. Efeitos observados, julgamentos e extrapolações são todos usados no estabelecimento de estimativas e de suas incertezas para apoiar o planejamento e a tomada de decisão.

A avaliação de risco é freqüentemente usada no desenvolvimento de ações regulatórias para proteger o público da exposição a poluentes tóxicos. A avaliação de risco também é aplicada na análise de ecossistemas e em assuntos como a depleção de ozônio na estratosfera e as mudanças climáticas globais. Devido ao fato de geralmente haver lacunas no levantamento de dados da avaliação de risco, esforços para comparar e classificar riscos ambientais devem sempre levar em conta o julgamento profissional.

Avaliação de risco comparativa

A maioria das avaliações de risco envolve a análise de uma substância específica ou de uma área considerada problema. Outro uso da avaliação de risco como uma ferramenta é para comparar riscos advindos de problemas múltiplos no âmbito estadual, regional, nacional ou global. Este processo de avaliação de risco comparativo envolve os passos seguintes.

1. Listagem de todas as áreas com problema na região, estado ou país;

2. Ranqueamento dos problemas com base no risco (saúde humana, ecológico, bem-estar ou qualidade de vida); esta classificação está baseada em uma análise de dados disponíveis específicos para o problema daquela região, estado ou país;

3. Desenvolvimento de uma agenda de ações para cuidar das áreas com problema, baseando-se na classificação de risco e em outros fatores (por exemplo, viabilidade, opinião pública, etc.).

A avaliação de risco comparativa é uma metodologia que usa conhecimento científico, políticas regulatórias, análise econômica e participação das partes interessadas para identificar e tratar das áreas que representam maiores riscos ambientais, provendo uma estrutura organizacional que permita a priorização dos problemas ambientais. Os resultados de uma análise de risco comparativa podem

ser usados para prover uma base técnica indicativa das ações de controle e das prioridades administrativas e de uso de recursos.

Um exemplo envolvendo o uso da avaliação de risco comparativa no estabelecimento de prioridades de controle é aquele adotado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) e pela Agência para Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR) para a classificação de substâncias consideradas *poluentes prioritários*, nos Estados Unidos. Este levantamento é realizado a cada dois anos e, em função de dados atualizados relativos à possibilidade de exposição e ao perigo envolvendo cerca de 275 substâncias, estas são então ranqueadas. A tabela 1 mostra a classificação das 20 principais substâncias, em 2003. A lista completa das substâncias avaliadas encontra-se em <http://www.atsdr.cdc.gov/clist.html>. Adicionalmente, informações extensivas relacionados à toxicidade e comportamento ambiental da maioria dessas substâncias podem ser consultados em <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>.

Um outro exemplo de avaliação de risco comparativa é aquele que foi usado também pela USEPA para classificar problemas ambientais considerados de alto, médio e baixo risco para a população humana ou para o ambiente, nos Estados Unidos, no documento intitulado *Unfinished Business: A Comparative Assessment of Environmental Problems*, publicado em 1987. Este documento foi considerado ponto de referência sobre o assunto e base para inúmeros trabalhos futuros, incluindo dentre estes um *software* desenvolvido em 1995 por pesquisadores da Universidade de Purdue (EUA), o qual encontra-se disponível para carregamento em <http://www.epa.gov/seahome/comprisk.html>

A figura 2 ilustra a abordagem adotada nesse *software* e a tabela 2 traz a classificação de riscos relativos representados por alguns dos 31 problemas ambientais considerados prioritários, ranqueados em 4 grandes categorias de risco, a saber: 1)

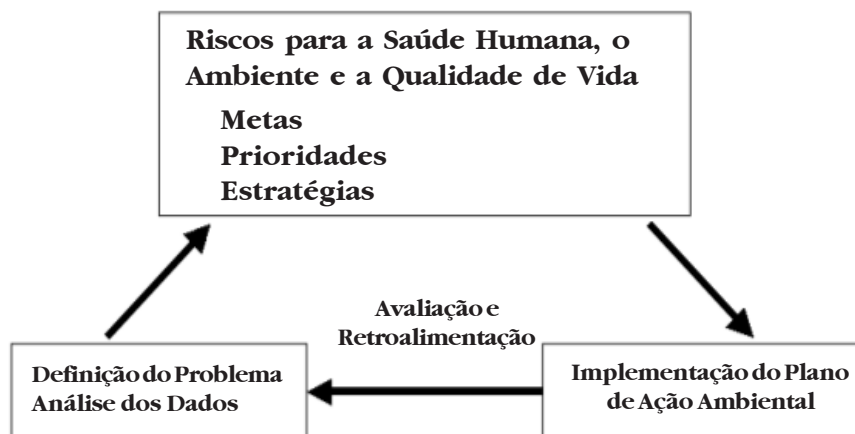


Figura 2. Abordagem sistemática para a tomada de decisão envolvendo riscos comparativos.

Tabela 1. Classificação de risco de substâncias perigosas consideradas prioritárias para controle nos Estados Unidos.

Classificação em 2003	Nome da substância	Classificação em 2001
1	Arsênio	1
2	Chumbo	2
3	Mercúrio	3
4	Cloreto de vinila	4
5	Bifenilas policloradas	5
6	Benzeno	6
7	Cádmio	7
8	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos	9
9	Benzo(a)pireno	8
10	Benzo(b)fluoranteno	10
11	Clorofórmio	11
12	DDT, p,p	12
13	Aroclor 1254	13
14	Aroclor 1260	14
15	Dibenzo(a,h)antraceno	16
16	Tricloroetileno	15
17	Cromo, hexavalente	18
18	Dieldrin	17
19	Fósforo, branco	24
20	Clordane	19

Fonte: <http://www.atsdr.cdc.gov/clist.html>

riscos à saúde humana - carcinogênicos; 2) riscos à saúde humana - não carcinogênicos; 3) riscos ecológicos; e, 4) riscos para o bem-estar (qualidade de vida).

Um resumo dos resultados desse estudo de 1987 revela que:

- Nenhum problema foi ranqueado como sendo de risco relativamente alto ou baixo em todas as 4 grandes categorias de risco;

- Problemas classificados como de médio a alto risco em 3 categorias foram: poluentes atmosféricos comuns, depleção da camada de ozônio na estratosfera, resíduos de pesticidas em alimentos e outros riscos associados a pesticidas (e.g., lixiviação, escoamento superficial);

- Problemas classificados como de alto risco para a saúde e de baixo risco ecológico e para o bem-estar foram: poluentes atmosféricos tóxicos ou perigosos, radônio em recinto fechado, poluição de ar em recinto fechado (exclui radônio), aplicação de pesticidas, exposição a produtos de consumo diversos e exposição do trabalhador a substâncias químicas;

- Problemas classificados como de alto risco ecológico ou para o bem-estar foram: efeito estufa, fontes pontuais e não pontuais de poluição de águas de superfície, alteração física de *habitats* aquáticos (incluindo áreas pantanosas e estuários) e rejeitos de mineração.

Ressalta-se que embora os

exemplos apresentados para análise de risco comparativa sejam provenientes de um país com condições de desenvolvimento diferentes daquelas existentes no Brasil, o que é importante nesse contexto é a necessidade de estabelecimento de prioridades. Este é o ponto principal a ser considerado quando se pergunta: *Por que fazer uma avaliação de risco comparativa?* Independentemente da situação financeira que atravessa um determinado país, estado ou município, não há recursos disponíveis para tratar de todas as preocupações ambientais de uma comunidade ao mesmo tempo. Como os tomadores de decisão trabalham sempre com restrições orçamentárias, então esses são obrigados a escolher o que deve ser priorizado, quer seja através de um processo definido de tomada de decisão, quer seja através de decisões circunstanciais.

Além disso, esses tomadores de decisão estão sempre enfrentando pressões políticas e da opinião pública para agir no sentido de reduzir riscos ambientais ditos "percebidos", os quais podem ou não representar uma ameaça atual para a saúde humana, o ambiente ou a qualidade de vida.

Relação entre avaliação de risco e gerência de risco

Conforme já definido anteriormente, a gerência de risco é o processo de tomada de decisão através do qual uma ação ou uma política é desenvolvida uma vez que um risco tenha sido determinado. Ela integra a avaliação de risco com assuntos técnicos, políticos, sociais e econômicos para desenvolver estratégias de redução e prevenção do risco. A integração de todos esses fatores envolvidos na gerência de risco é bastante complexa e um caso especialmente interessante e para o qual tem sido dada uma grande ênfase mais recentemente é o que diz respeito à análise econômica de benefícios ecológicos, visto que as diferentes visões e perspectivas de economistas e ecologistas devem ser integradas visando uma avaliação interdisciplinar das questões

Tabela 2. Classificação comparativa de risco de alguns problemas ambientais nos Estados Unidos, de acordo com quatro grandes categorias de risco

Problema ambiental	Categoria de risco			
	Riscos à saúde humana carcinogênicos ¹	Riscos à saúde humana não carcinogênicos ²	Riscos ecológicos ³	Riscos para o bem-estar ⁴
Poluentes atmosféricos comuns (SO ₂ , NO _x , ozônio, CO, chumbo, particulados) provenientes de fontes móveis e estacionárias	Classe 3 (22)	Alto	3	Alto (1)
Poluentes atmosféricos tóxicos ou perigosos (inclui possíveis carcinogênicos)	Classe 1 (6)	Alto	4	Baixo (23)
Poluição do ar em recinto fechado (exclui radônio)	Classe 1 (4)	Alto	-	Mínimo
Substâncias suspeitas de afetar camada de ozônio na estratosfera	Classe 2 (8)	Médio	1	Alto (6)
Gás carbônico & efeito estufa	Classe 5 (28)	Não ranqueado	1	Alto (5)
Fontes pontuais diretas de descarga em águas de superfície	Classe 4 (23)	Baixo	3	Alto (8)
Fontes não pontuais (difusas) de descarga em águas de superfície	Classe 3 (20)	Médio	3	Alto (2)
Lodo de esgoto (biossólido) contaminado	Classe 3 (17)	Baixo	5	Baixo (22)
Poluição de água potável (na torneira)	Classe 2 (9)	Alto	-	Baixo (19)
Locais de descarte de resíduos perigosos - inativos	Classe 2 (7)	Baixo	5	Médio (9)
Locais de descarte de resíduos não perigosos - municipais	Classe 3 (16)	Médio	5	Médio (10)
Locais de descarte de resíduos não perigosos - industriais	Classe 2 (14)	Médio	5	Baixo (15)
Rejeitos de mineração	Classe 3 (18)	Baixo	2	Baixo (21)
Vazamentos acidentais - produtos tóxicos	Classe 4 (25)	Alto	5	Baixo (17)
Vazamentos acidentais - derramamento de óleo	Classe 4 (26)	Não ranqueado	5	Baixo (18)
Vazamentos de tanques de armazenamento	Classe 3 (19)	Baixo	6	Baixo (16)
Outras fontes de contaminação de água de subsuperfície	Classe 3 (21)	Não ranqueado	5	Mínimo
Resíduos de pesticidas no alimento (humano e de vida selvagem)	Classe 1 (3)	Alto	3	Mínimo
Aplicação de pesticidas	Classe 2 (10)	Alto	-	Mínimo
Outros riscos associados a pesticidas (e.g., lixiviação, escoamento superficial)	Classe 2 (12)	Médio	3	Médio (13)
Riscos da biotecnologia (inclui organismos geneticamente modificados)	Classe 5 (27)	Não ranqueado	-	Médio (14)
Exposição a produtos químicos em artigos de consumo diversos	Classe 1 (4)	Alto	-	Mínimo
Exposição do trabalhador a substâncias químicas	Classe 1 (1)	Alto	-	Mínimo

¹ Classe 1 representa o mais alto risco e classe 5 representa risco de câncer não identificado (número entre parênteses identifica ranqueamento dentro das classes); ² Classificação relativa – alto, médio ou baixo; ³ Número 1 representa o maior risco e 6, o menor (problemas classificados com mesmo número não foram ranqueados); ⁴ Classificação relativa – alto, médio, baixo ou mínimo (número entre parênteses identifica ranqueamento dentro das classes de alto, médio ou baixo risco relativo).

ambientais. Para informações adicionais pertinentes a esta questão sugere-se uma consulta ao documento *A Framework for the Economic Assessment of Ecological Benefits* recentemente editado pela USEPA (disponível em <http://www.epa.gov/osa/spc/pdfs/feaeb3.pdf>), bem como ao texto de Guilherme (2000).

A gerência de risco tem que levar em conta as incertezas associadas com as várias suposições e julgamentos feitos em cada passo do processo envolvendo a avaliação de risco. Quando possível, a avaliação de risco deve discutir as incertezas de tal forma que o responsável por gerenciar o risco possa levar isto em consideração na sua tomada de decisão. Como ilustração, apresenta-se, na figura 3, a relação entre os elementos da avaliação de risco e da gerência de risco, levando-se em consideração a saúde humana.

Sumarizando-se as informações constantes na figura 3, nota-se que diferentes tipos de informação são usados na avaliação de risco à saúde. A “identificação do perigo” é uma

determinação qualitativa de que um determinado agente está casualmente ligado a efeitos específicos à saúde. Dados avaliados neste processo podem incluir estudos epidemiológicos, estudos com animais, ensaios de curta duração e comparações baseadas nas relações entre atividade e estrutura. Uma “avaliação de dose-resposta” é executada por pessoal especializado que usa dados disponíveis sobre o indicador ou ponto final de avaliação envolvendo a saúde tanto para estudos com humanos quanto com animais. Esta avaliação de dose-resposta inclui o exame de como os dados dos estudos com humanos e animais são influenciados pelo nível de exposição ao agente químico, assim como também diferenças entre espécies ou na resposta toxicológica de um determinado órgão. O componente “avaliação da exposição” usa informação sobre níveis ambientais, destino e transporte, análises ecológicas, exposições no ponto de contato, modelagem farmacocinética dos dados e características demográficas. O componen-

te final, denominado “caracterização do risco”, é uma medida do risco ao indivíduo ou para a população que leva em conta a informação coletada durante a identificação do perigo, a avaliação de dose-resposta e a avaliação de exposição, as quais são caracterizadas completamente por meio da discussão e interpretação dos pontos fortes e fracos envolvendo os dados, do conhecimento e ou da falta de conhecimento sobre os fenômenos biológicos avaliados e sobre as incertezas qualitativas ou quantitativas da análise. Esses passos da avaliação de risco para a saúde humana são discutidos com mais detalhes no item a seguir.

Avaliação de riscos para a saúde humana

No sentido mais simples, riscos à população advindos de poluentes tóxicos existem em função de dois fatores mensuráveis: perigo e exposição. Para gerar um risco, uma substância química tem que apresentar perigo e estar presente no ambiente

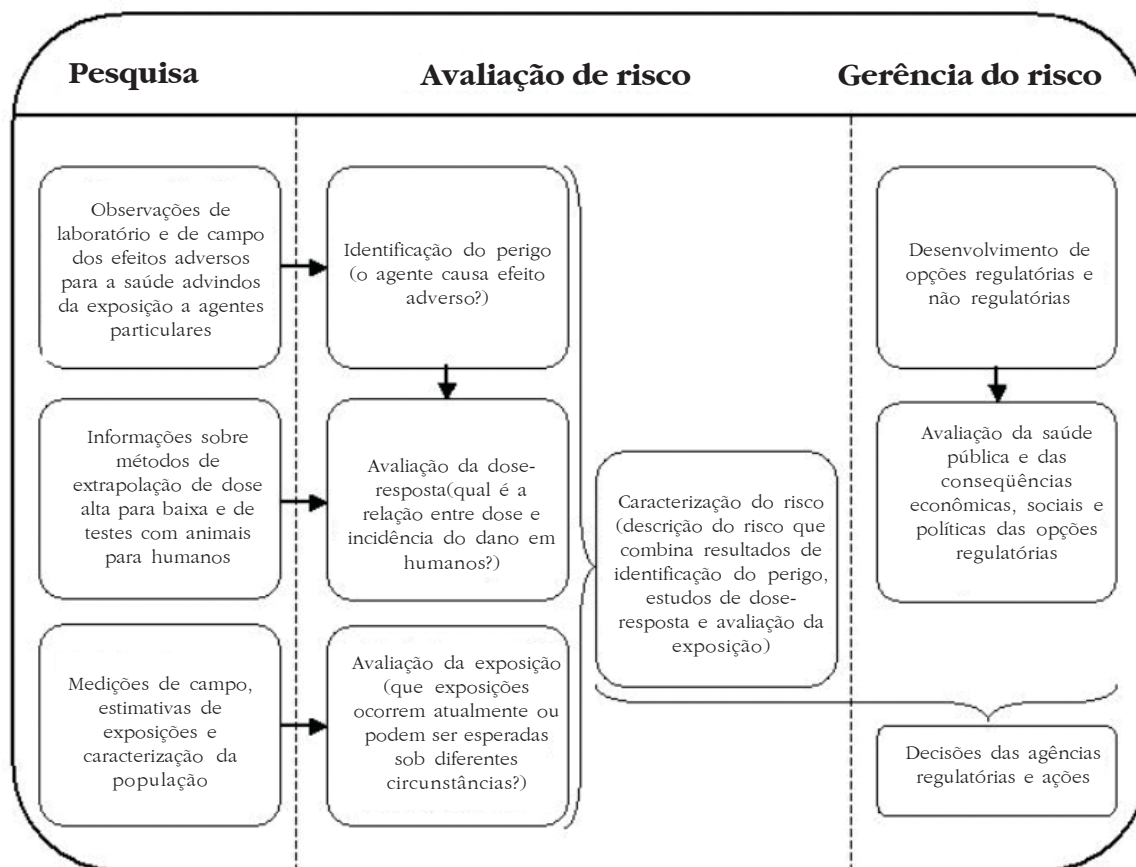


Figura 3. Elementos da avaliação e gerência de risco

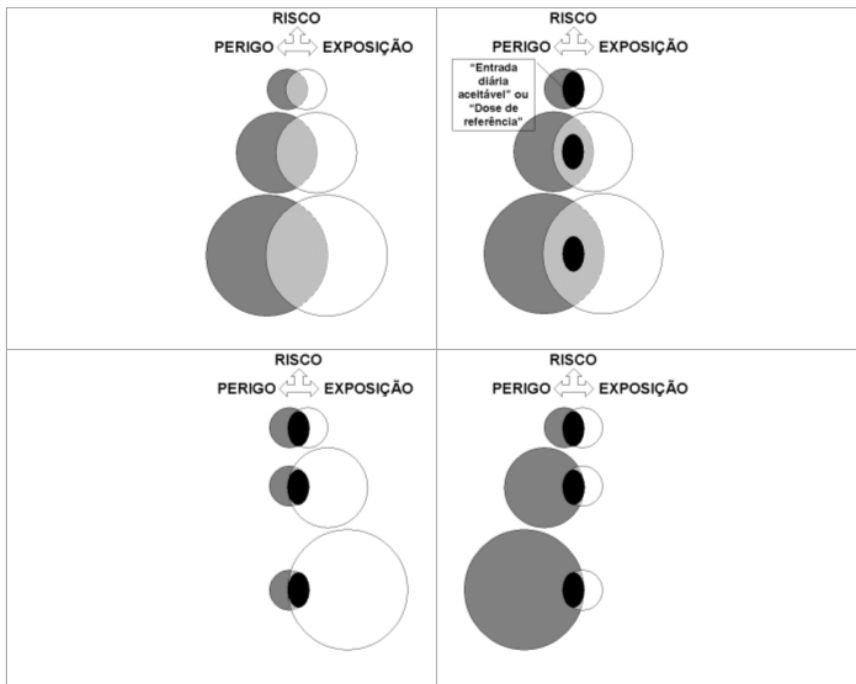


Figura 4. Ilustração gráfica do conceito de risco (intersecção das áreas que representam o perigo e a exposição), comparando-o com o conceito de entrada diária aceitável ou dose de referência (área em preto).

em um certo nível tal que seja significativa. A avaliação de risco é uma interpretação da evidência desses dois pontos. A figura 4 procura ilustrar isso.

Nota-se na figura 4 que o risco representado pela substância química ou agente (ilustrado graficamente pela área em cinza claro derivada da intersecção entre o perigo e a exposição) será tanto maior quanto maiores forem a exposição e o perigo (maiores áreas dos círculos). Se a área de intersecção - que representa o risco - puder ser avaliada em termos de quantidade de um agente perigoso qualquer que atinge um determinado indivíduo ou população, então a mesma poderá ser comparada com os valores representados pela “entrada diária aceitável” ou “dose de referência” (vide definições em Borém, 2004), obtendo-se, assim, um parâmetro comparativo entre o risco estimado e aquele considerado aceitável. Caso o valor estimado para o risco (área da intersecção) seja igual ou menor que o valor que representa a entrada diária aceitável ou dose de referência (área em preto), então uma intervenção no ambiente afetado poderá ser descartada. Do contrário – se o risco estimado for maior que o acei-

tável – então há que se proceder a uma estratégia de remediação que possa tornar o local seguro para uso atual e futuro.

Pode-se inferir também pela figura 4 que se o perigo é pequeno (pequeno tamanho do círculo em cinza escuro), então mesmo que a exposição seja grande (círculos em branco), o risco estimado poderá ser negligível ou estar próximo do nível aceitável. Analogamente, se a exposição é pequena, então mesmo que o perigo seja grande, há a possibilidade de que o risco estimado seja igual ou menor que aquele considerado aceitável. Esse último caso é de especial interesse, pois controlar a exposição (por exemplo, mediante o uso de equipamentos de proteção individual ou da correta utilização de produtos químicos) representa a melhor maneira de se reduzir o risco advindo de um agente qualquer que possui um perigo intrínseco a ele associado. Obviamente, nas circunstâncias em que inexistente o perigo e, ou, a exposição a um agente qualquer, então o risco é considerado nulo. Essa situação de “risco zero”, entretanto, é utópica.

A avaliação de risco permite julgar se efeitos adversos acontecerão ou não e, caso aconteçam, quais

seriam os cálculos necessários para se estimar a extensão total dos efeitos. A estrutura organizacional da avaliação de risco é útil para auxiliar no agrupamento de informações e nas interpretações científicas dos fatos, o que ajuda na formulação de políticas regulatórias e de estratégias de gerenciamento ambiental. Em cada um dos quatro passos no processo de avaliação de risco, dados são agrupados e interpretados visando conclusões sobre fatores de risco. Frequentemente a interpretação da informação é expressa como sendo o melhor julgamento científico possível por parte dos avaliadores de risco. Para auxiliar no estabelecimento de referências toxicológicas, frequentemente lança-se mão de bancos de dados como aquele da USEPA (The Integrated Risk Information System - IRIS), o qual contém informações resumidas acerca de efeitos crônicos à saúde humana para aproximadamente 500 substâncias químicas e outros agentes. Esse sistema de informação de risco inclui seções sumarizando efeitos potenciais da exposição oral a (dose de referência oral) ou da inalação de (concentração de referência para inalação) substâncias consideradas não carcinogênicas, bem como informação sobre risco de carcinogênicos. Essa base de dados representa um recurso inicial útil para a identificação do perigo e para a busca de informações sobre dose-resposta, permitindo ainda que o usuário busque informações sobre os dados originais nos quais a informação foi baseada. Para acessar esse banco de dados, consulte a lista de *websites* sugeridos ao final deste artigo.

Identificação do perigo

A Identificação do perigo, o primeiro passo no processo de avaliação de risco para a saúde humana, envolve o julgamento da evidência disponível acerca da possibilidade de uma substância particular causar um efeito adverso para a saúde. Também pode envolver a caracterização do comportamento de uma substância química dentro do corpo e sua interação com órgãos, células

ou até mesmo componentes das células. Idealmente, estudos epidemiológicos são os mais adequados e importantes nesses casos, porém, a disponibilidade destes dados é limitada. Estas avaliações dependem mais freqüentemente de testes com animais. Estes testes permitem o controle rigoroso de muitos fatores que podem gerar incertezas. Porém, sistemas biológicos de animais são diferentes daqueles dos seres humanos. Algumas espécies de animais parecem ser mais sensíveis que os humanos a certas substâncias e menos sensíveis a outras.

Avaliação da dose-resposta

A avaliação da dose-resposta é o processo de caracterização da relação existente entre a dose recebida de um agente qualquer e a incidência de efeitos adversos na população exposta. Enquanto a identificação do perigo procura determinar se é provável que uma substância química cause um efeito particular em humanos ou animais, o estudo da dose-resposta quantifica este efeito, ou seja, determina qual é a intensidade de resposta obtida em vários níveis de exposição (dose). A intensidade de dano causado por diferentes substâncias varia amplamente; por exemplo, uma substância química A e outra B podem, ambas, causar câncer em animais, mas pode ser necessário uma dose muito maior da substância A do que da B para produzir tumores em animais testados no laboratório. Quando os resultados da avaliação da dose-resposta com animais são extrapolados para seres humanos, devem ser feitos ajustes para se corrigirem diferenças entre humanos e animais no que diz respeito à sensibilidade e à farmacocinética (taxa de transformações fisiológicas das substâncias). Normalmente, efeitos de baixas dosagens são deduzidos de resultados de estudos de laboratório ou epidemiológicos com altas dosagens. Embora algumas diferenças possam ser ajustadas, muitas outras não são suficientemente entendidas, gerando, assim, incertezas (por exemplo, animais e humanos podem diferir

em suscetibilidade em função de idade, sexo, diversidade genética, estado de saúde, estilo de vida ou outros fatores). Para informação atualizada relativa a estudos de dose-resposta, sugere-se uma consulta à base de dados descrita anteriormente (IRIS).

Avaliação da exposição

A exposição acontece quando os seres humanos entram em contato com um agente qualquer. Por outro lado, a dose é a quantidade da substância que realmente penetra no organismo. A exposição pode acontecer por ingestão, inalação ou absorção dermal (Figura 5). A rota de exposição geralmente afeta a extensão da absorção e, conseqüentemente, a dose. Exposição e dose são consideradas ao se avaliar o risco, pois: 1) um agente tem que alcançar receptores biológicos (por exemplo, órgãos ou células) para produzir uma resposta; 2) a produção de uma resposta e a intensidade da mesma são relacionadas com a dose do agente no receptor; e, 3) a concentração e a rota de exposição afetam significativamente a dose do agente no receptor.

A avaliação da exposição está baseada em monitoramento ambiental ou em modelagem, podendo também advir da combinação desses. Ressalta-se, entretanto, que dados concretos provenientes da exposição de humanos bem como dados extensivos de monitoramento são geralmente limitados, devido a limitações orçamentárias. Um resumo dos dados disponíveis sobre vários fatores usados na avaliação da exposição humana, incluindo consumo de água potável, consumo de diferentes alimentos (como frutas, verduras, carnes, laticínios e peixes) padrões para solos e massa corpórea, pode ser encontrado nas publicações *EPA/600/8-89/043 Exposure Factors Handbook* e *EPA/600/R-03/029 CSFII Analysis of Food Intake Distributions*, as quais podem ser obtidas consultando-se um dos *websites* sugeridos ao final deste artigo (<http://www.epa.gov/nepis/>).

Caracterização do risco

A caracterização do risco é a combinação da identificação do perigo com informações sobre dose-resposta e exposição. Embora os cálculos finais para se estimar o risco sejam diretos, o modo através do qual a informação é apresentada é importante. A avaliação final deve revelar toda a informação pertinente ao assunto que estava disponível no momento da tomada de decisão, incluindo aquela relativa a fatores tais como a natureza e a relevância da evidência levantada em cada passo do processo, as incertezas associadas e a distribuição do risco através dos vários segmentos da população.

Avaliação de riscos ecológicos

A abordagem usada na avaliação de riscos ecológicos é conceitualmente semelhante àquela usada na avaliação de riscos para a saúde humana. A avaliação de riscos ecológicos determina a probabilidade de que efeitos ecológicos adversos estejam acontecendo ou acontecerão como resultado da exposição a um ou mais agentes. O termo "agente" pode ser definido como qualquer entidade química, física ou biológica que pode induzir efeitos adversos em indivíduos, populações, comunidades ou ecossistemas. Esses agentes podem ser representados tanto por uma drenagem de uma área pantanosa quanto pela liberação de substâncias químicas no ambiente. Assim, a avaliação de riscos ecológicos deve ser flexível o suficiente de modo a proporcionar uma estrutura lógica e científica que permita acomodar uma ampla gama de agentes que possam resultar em um risco. A avaliação de riscos ecológicos pode ajudar na identificação de problemas ambientais, no estabelecimento de prioridades e no provimento de uma base científica para ações regulatórias. Esse processo pode identificar riscos existentes ou então prever os riscos de advindos de agentes que ainda não estão presentes no ambiente.

A avaliação de riscos ecológicos inclui três fases primárias: formula-

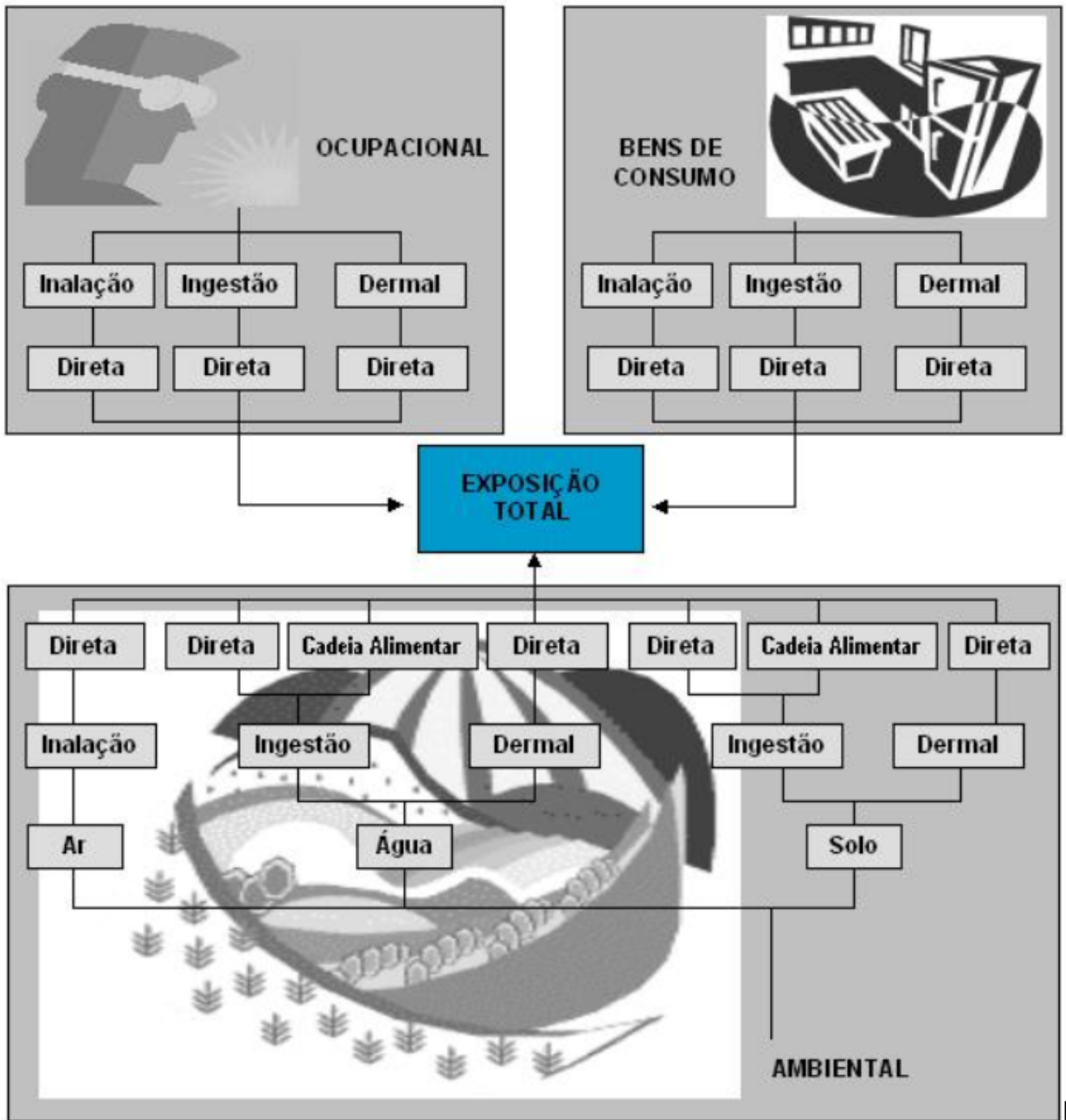


Figura 5. Rotas principais de exposição na avaliação de risco à saúde humana.
 Fonte: Adaptado de Fairman et al. (1999)

ção do problema, análise e caracterização do risco (Figura 6). Durante a formulação do problema, os avaliadores de risco estabelecem metas e selecionam os indicadores da avaliação, preparam o modelo conceitual e desenvolvem um plano de análise. Durante a fase de análise, são avaliadas a exposição ao(s) agente(s) e a relação entre nível de exposição e os efeitos ecológicos. Na terceira fase, caracterização do risco, os avaliadores estimam os riscos com base

no cruzamento das informações de exposição com o perfil de resposta ao(s) agente(s). Estes riscos são então descritos, discutindo-se as evidências e determinando-se as adversidades ecológicas, sendo posteriormente relatados em um relatório. Uma estreita cooperação entre as partes interessadas e os avaliadores e gerentes de risco, durante o planejamento inicial, bem como a correta comunicação do risco, ao término da avaliação, são críticos para assegurar

que os resultados da avaliação de risco possam ser usados para suportar as decisões de gerência.

Em função da necessidade de participação de pessoas com notório conhecimento numa determinada área específica (especialmente em avaliações de risco ecológico complexas), avaliadores de risco e gerentes de risco frequentemente trabalham em equipes multidisciplinares.

Tanto os gerentes quanto os



Figura 6. Modelo de avaliação de riscos ecológicos utilizado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos.

Fonte: USEPA Risk Assessment Forum (vide website ao final deste artigo)

avaliadores de risco devem contribuir significativamente para as atividades iniciais de planejamento da avaliação de risco ecológico. Gerentes de risco encarregados de proteger o ambiente devem identificar a informação que eles precisam para tomar suas decisões, enquanto que os avaliadores de risco devem assegurar que o conhecimento científico seja usado efetivamente para enfatizar as preocupações ecológicas. Juntos, avaliadores e gerentes podem julgar se a avaliação de risco realmente focalizou os problemas identificados. Ressalta-se que o processo envolvido nesse planejamento inicial é distinto daquele procedimento científico requerido para uma avaliação de risco ecológico. Esta distinção deve assegurar que questões políticas e sociais possam ajudar na definição dos objetivos da avaliação de risco sem, entretanto, induzir a decisões tendenciosas.

Considerações finais

Conforme foi relatado neste artigo, a *análise de risco* é um proces-

so de *avaliação, gerenciamento e comunicação* usado para avaliar dados científicos, comparar e selecionar as políticas de ação disponíveis e comunicar toda a informação obtida no intuito de prevenir ou controlar riscos não desejados advindos da exposição de um indivíduo ou população a um agente particular.

A *avaliação de risco* é um passo crucial nesse processo, pois é nesta fase que são levantadas todas as informações sobre os riscos estimados, os quais tendem a ser comparados com riscos considerados aceitáveis, visando respaldar, de maneira objetiva, as futuras ações de gerenciamento e comunicação de risco. Entretanto, a tentativa de se comparar, em termos quantitativos, um risco calculado (a partir da estimativa da exposição de um indivíduo ou uma população a um agente perigoso qualquer) com um risco considerado aceitável (valor este proveniente de testes toxicológicos ou ecotoxicológicos), nem sempre é possível, especialmente em se tratando de avaliações de riscos ecológicos.

Mesmo sabendo-se que algumas incertezas qualitativas e quantitativas cercam as estimativas de risco para a saúde humana, a possibilidade de comparação de valores calculados com aqueles considerados aceitáveis traz um referencial mais objetivo para a tomada de decisão por parte dos agentes regulatórios. Já no caso da avaliação de riscos ecológicos e, mais especificamente, aqueles associados aos organismos geneticamente modificados (OGMs), a multitude dos indicadores a serem avaliados, aliada ao pouco conhecimento acerca dos efeitos ecológicos em longo prazo torna o processo de caracterização de risco bem menos preciso e a tomada de decisão bem mais complexa, diante do desafio de decidir o que venha a ser o risco aceitável. Esta situação tem levado alguns autores a sugerir uma abordagem do risco de OGMs baseada no princípio da precaução (Ervin et al., 2000), sem que isto signifique, entretanto, uma moratória aos organismos geneticamente modificados (Batie, 2003).

No caso da avaliação de risco dos OGMs ou de outro agente qualquer, embora seja desejável, do ponto de vista da proteção da saúde humana e do ambiente, que não haja efeitos adversos às populações ou aos ecossistemas, é razoável que se admita, do ponto de vista da *gerência de risco*, que a filosofia do “risco zero” é impraticável numa sociedade onde a intervenção antrópica atingiu os níveis correntemente observados nas civilizações atuais. Assim sendo, é de se esperar que os benefícios derivados para um organismo, uma população ou um sistema ecológico excedem em valor os efeitos adversos resultantes da exposição a um agente particular. O uso de vacinas (um agente biológico) é um exemplo concreto disso e é facilmente aceito pela população, já que os benefícios são bastante mais evidentes que os prováveis efeitos adversos.

Finalizando, vale ressaltar, porém, que por ocasião da *comunicação de risco* para a sociedade, esta deve ser alertada para o fato de que suas necessidades básicas, bem como

os bens de consumo que a cerca - os quais lhe trazem graus variáveis de satisfação ou de benefício - somente podem existir a partir da exploração de recursos naturais que, mesmo que sejam extraídos ou produzidos de modo a gerar o menor efeito adverso possível ao ambiente, possuem uma taxa de renovação ou de reposição geralmente menor do que aquela em que atualmente são consumidos.

Literatura Consultada

BATIE, S.S. 2003. The environmental impacts of genetically modified plants: challenges to decision making. Oxford: American Journal of Agricultural Economics, 85(5):1107-1111.

BORÉM, A. (Org.). Biotecnologia e meio ambiente. 1 ed. Viçosa, EDITORA UFV, 2004. 425 p.

DUFFUS, J.H. 2001. Risk assessment terminology. Research Triangle Park: Chemistry International,

23(2):34-39.

ERVIN, D.; BATIE, S.; WELSH, R.; CARPENTIER, C.; FERN, J.; RICHMAN, N. & SCHULZ, M. 2000. Transgenic crops: an environmental assessment. Arlington: Henry A. Wallace Center For Agricultural and Environmental Policy at Winrock International, 81p. (Policy Studies Report N° 15)

LEWALLE, P. 1999. Risk assessment terminology: methodological considerations and provisional results. Vienna: Terminology Standardization and Harmonization, 11(1-4): 1-28.

FAIRMAN, R.; MEAD, C.D. & WILLIAMS, W.P. 1999. Environmental risk assessment - approaches, experiences and information sources. Denmark: European Environment Agency. Environmental issue report N° 4. (disponível em <http://reports.eea.eu.int/GH-07-97-595-EN-C2/index.html>)

GUILHERME, L.R.G. 2000. Impacto

ambiental e análise de risco: risco e custo como elementos para tomada de decisão. Lavras: Editora UFLA, 26 p.

USEPA. 1998. Guidelines for ecological risk assessment. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency. EPA/630/R-95/002F.

USEPA. 1992a. Guidelines for exposure assessment. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency. EPA/600/Z-92/001.

USEPA. 1992b. Framework for ecological risk assessment. Washington, DC: Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency. EPA/630/R-92/001.

USEPA. 1992c. Risk assessment. Washington, DC: Office of Research and Development, Office of International Activities, U.S. Environmental Protection Agency. EPA/600/M-91/034.

Web Sites Sugeridos

Agency for Toxic Substances and Disease Registry: <http://www.atsdr.cdc.gov>

A Citizen's Guide to Risk Assessments and Public Health Assessments: <http://www.atsdr.cdc.gov/publications/CitizensGuidetoRiskAssessments.html>

EEA (European Environment Agency): <http://www.eea.eu.int/>

EEA Multilingual Environmental Glossary: <http://glossary.eea.eu.int/EEAGlossary>

EEA Reports: http://reports.eea.eu.int/index_table?sort=Thematically

Glossary of IRIS (Integrated Risk Information System) Terms: <http://www.epa.gov/iris/gloss8.htm>

The Society for Risk Analysis: <http://www.sra.org/>

Terms of the Environment: <http://www.epa.gov/OCEPAterms/>

USEPA (United States Environmental Protection Agency): <http://www.epa.gov/>

USEPA Integrated Risk Information System (IRIS): <http://www.epa.gov/iris/>

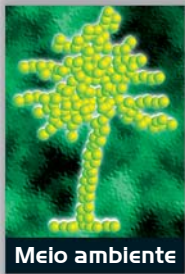
USEPA Office of Research and Development: <http://www.epa.gov/ord/>

USEPA National Center for Environmental Assessment: <http://www.epa.gov/ncea/>

USEPA National Environmental Publications Information System: <http://www.epa.gov/nepis/>

USEPA Comparative Risk Assessment: <http://www.epa.gov/seahome/comprisk.html>

USEPA Risk Assessment Forum: <http://cfpub.epa.gov/ncea/raf/index.cfm>



RISCO E SEGURANÇA AMBIENTAL



Efeitos potenciais da introdução de plantas transgênicas

Vagner Augusto Benedito

Dr, Engenheiro Agrônomo, M.Sc., PhD e Pós-doutorando do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) Universidade de São Paulo (USP).
benedito@cena.usp.br

Antonio Vargas de Oliveira Figueira

Dr, Engenheiro Agrônomo, PhD, Livre Docente e Professor Associado do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Universidade de São Paulo (USP).
figueira@cena.usp.br

Introdução

A falta de conhecimento pelos consumidores das práticas agrícolas tende a enfatizar as preocupações sobre o impacto ambiental do cultivo de plantas geneticamente modificadas. Um aspecto importante quando se avalia o impacto das plantas transgênicas é a definição de uma base comparativa, uma vez que todos os tipos de agricultura, mesmo o cultivo orgânico, causam grandes impactos ao meio ambiente. A origem do desequilíbrio ambiental causado pela agricultura reside na necessidade primordial de fornecer alimentos e matéria-prima para a manutenção e desenvolvimento das sociedades humanas, muito mais numerosas hoje do que num equilíbrio pré-civilização.

O impacto dos transgênicos sobre o ambiente vem sendo muito discutido, chegando a envolver seriamente as esferas científicas, políticas e da sociedade leiga. A tecnologia transgênica tem o potencial de revolucionar a agricultura, prometendo desde maiores produtividades (pela resistência a estresses bióticos e abióticos, ou melhor eficiência fotossintética) até menor aplicação de pesticidas e fertilizantes, além de possibilitar a produção de fármacos e alimentos com melhores propriedades nutricionais. Contudo, os transgênicos têm sido alvo de discussão em relação aos possíveis riscos de desequilíbrio do ecossistema oriundos da introdução de variedades transgênicas no campo.

A natureza dos riscos ambientais de transgênicos depende das caracte-

terísticas particulares da biologia de cada espécie, do transgene, do ecossistema no qual a lavoura será implantada, além do manejo do sistema de produção e de uma regulação governamental e sua aplicação. Entretanto, não se deve perder a perspectiva do impacto ambiental causado pela própria agricultura convencional.

Para a maioria dos riscos potenciais das plantas transgênicas, estratégias têm sido desenvolvidas e adotadas para minimizá-los. A adoção de transgênicos no Brasil precisa, assim, ser considerada caso a caso e os dados experimentais acerca do impacto no ambiente necessitam ser validados em condições tropicais e subtropicais.

Neste artigo, uma análise do debate sobre os transgênicos e de seus potenciais riscos ambientais inicia-se à luz do legado de Rachel Carson, do princípio da precaução e da revolução verde, culminando nos problemas ambientais levantados a respeito das plantas transgênicas e da perspectiva de superação desses problemas.

O legado de Carson

O momento após a II Guerra Mundial trouxe um desenvolvimento nunca antes presenciado pela humanidade e a maioria dos membros da sociedade acreditava que a ciência levava a criação de coisas essencialmente boas. Essa era a visão da sociedade acerca de todo o progresso tecnológico pós-guerra, incluindo o que passou a se chamar de revolução verde, um pacote de novas tecnologias de produção agrí-

cola, como tratores, cultivares melhorados (milho híbrido, trigo-anão), o uso massivo de fertilizantes e defensivos (incluindo-se o inseticida DDT, usado contra o vetor da malária e na agricultura).

Rachel Carson (1907-1964) observou e relatou em seu livro “Primavera Silenciosa” (1962), o impacto imprevisto na natureza e na sociedade humana causado pelo uso desenfreado do DDT, como o desequilíbrio em insetos não-alvo, o acúmulo do inseticida nas cadeias tróficas e no homem e os seus potenciais efeitos carcinogênicos nas futuras gerações. O livro causou grande impacto, levando à proibição de seu uso em diversos países a partir da década de 1970. Entretanto, esse livro foi mais longe, ajudando a firmar a consciência de uma relação entre as atividades humanas e o equilíbrio da natureza, além de deixar a sociedade alerta quanto aos riscos potenciais das novas tecnologias e conquistas científicas. Rachel Carson é lembrada por ter alertado a humanidade que o progresso científico deve estar sempre aliado à conservação ambiental. É nesse contexto que se faz premente e salutar o debate em todo o mundo sobre a segurança e riscos potenciais envolvidos na produção das plantas transgênicas.

Risco e Segurança Ambiental e o método científico

O risco ambiental de uma tecnologia envolve a probabilidade inerente dessa tecnologia trazer dano ao ambiente. Por outro lado, segurança ambiental é a certeza dessa tecnologia ser inofensiva ao bioma. Infelizmente, dada à complexidade envolvida nas relações ecológicas naturais, é muito difícil de serem estabelecidos com precisão todos os riscos potenciais ou de se dar um índice absoluto de segurança ambiental para uma tecnologia ainda a ser implementada.

Da mesma forma, o rigor científico também não permite oferecer conclusões absolutas fora do âmbito da experimentação e análise, ou seja, não é possível concluir a segurança

ambiental de uma tecnologia sem antes testá-la nas mesmas condições de sua utilização, nem de certifi-cá-la por um tempo maior do que aquele avaliado experimentalmente.

Entretanto, há avaliações científicas que poderão oferecer níveis de segurança ambiental, embora perguntas inovadoras poderão ficar sem resposta até que uma experimentação adequada seja concluída.

Os riscos ambientais causados pela inovação biotecnológica são basicamente o desequilíbrio dos ecossistemas biológicos pela introdução de novos agentes catalisadores de mudanças nas relações ecológicas; a perda da biodiversidade natural de um ecossistema pelos danos causados pelo potencial de seleção de uma ou mais espécies (adaptabilidade); e o fluxo gênico entre espécies relacionadas ou não (transferência gênica vertical ou horizontal). É importante ressaltar que riscos ambientais semelhantes derivam da atividade agrícola tradicional.

Com relação aos riscos inerentes à biotecnologia, incluindo a transgenia, diversos documentos oficiais de governos e organizações trabalharam no tema ambiente e impacto causado pelo homem, estabelecendo-se o “princípio da precaução”.

Princípio da Precaução

O princípio da precaução é a formulação em redação jurídica do ditado popular “*antes prevenir do que remediar*” e descreve a “procura pela imposição de medidas preventivas antecipadas para prevenção daqueles riscos para os quais se tem pouco ou nenhum conhecimento no qual se possa prever a probabilidade de dano futuro” (Conko, 2003). É a aplicação da máxima latina “*in dubio pro reo*”, que se torna “*in dubio pro natura*”.

Tendo surgido na década de 1980, o princípio da precaução foi reformulado tantas vezes em documentos oficiais, que Sandin (1999) encontrou 19 formulações diferentes. Assim, pode-se dizer hoje que existem vários princípios da precaução, seguindo duas correntes: uma

forte e outra mais branda (Morris, 2000).

A corrente forte do princípio da precaução dita que a incerteza sobre a exposição ou magnitude de um risco justifica necessariamente uma resposta regulatória para prevenir ou minimizar o risco. Essa aceção do princípio da precaução exige uma garantia de segurança absoluta, o que é impossível de ser oferecida pelo rigor do método científico.

Já a versão mais branda do princípio, mais amplamente adotada, pondera que a incerteza não deve ser usada como uma desculpa para a inação governamental nem como justificação para prevenir uma resposta regulatória. O exemplo clássico dessa definição é dada pela Declaração Ministerial da II Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, ocorrida no Rio de Janeiro em 1992 (ECO-92). O documento, conhecido como Declaração do Rio, afirma no Princípio 15 da Carta da Terra: “onde existam ameaças de riscos sérios ou irreversíveis, não será utilizada a falta de certeza científica total como razão para o adiamento de medidas eficazes em termos de custos para evitar a degradação ambiental” (ONU, 1992).

Mais recentemente, a Convenção sobre Diversidade Biológica, em 2000, levou à formulação do Protocolo de Biossegurança de Cartagena, que busca a proteção da biodiversidade ecológica dos riscos potenciais impostos por organismos transgênicos, referindo-se ao princípio da precaução e reafirmando o Princípio 15 da Declaração do Rio. Ademais, o protocolo também estabeleceu medidas de compensação para a biossegurança (*Biosafety Clearing-House*) no intuito de facilitar o intercâmbio de informações científicas, técnicas, ambientais e legais e as experiências com os organismos geneticamente modificados. O Brasil ratificou o protocolo em novembro de 2003, o qual entrou em vigor em fevereiro de 2004.

Inerente à precaução que o princípio postula, há dialeticamente o risco de paralisação (Sustein, 2002), uma vez que novas tecnologias, pela

própria definição de inovação, trazem incertezas e riscos. Não se podendo calcular riscos imprevisíveis, o que deve ser analisado na decisão sobre uma tecnologia ou produto são os parâmetros que levem a julgar sobre os possíveis custos ambientais em relação aos prováveis benefícios sociais trazidos por sua implementação ou banimento.

Revolução Verde e Biotecnologia

A revolução verde, trazendo novas perspectivas de produção e produtividade agrícola, foi um elemento-chave na conquista da segurança alimentar atual. A fome mundial já não se deve mais à falta de alimento, mas à má distribuição de riquezas entre países e classes sociais (FAO, 2001). A revolução na produção agrícola ocorreu no período pós-guerra, mas toda a tecnologia produtiva estava limitada ao potencial genético-produtivo inerente às culturas.

Hoje, com o advento da biotecnologia, se fala numa segunda revolução verde, que não mais estaria limitada ao potencial genético natural das espécies, mas que permite o intercâmbio gênico de uma espécie a uma outra não relacionada, superando até mesmo barreiras entre os domínios da vida, como a introdução de genes de uma bactéria ou animal em uma planta ou vice-versa. A biotecnologia tem, assim, a potencialidade de aumentar enormemente a produtividade agrícola, bem como gerar produtos até então inexistentes e facilitar a obtenção ou melhorar a qualidade dos produtos primários.

É certo que o sistema produtivo proveniente da revolução verde trouxera consigo um imenso impacto ambiental, no uso em grande escala de máquinas e agroquímicos, alterando drasticamente as relações ecológicas naturais, embora a agricultura seja essencialmente impactante ao ambiente, até mesmo a agricultura ecológica, ao estabelecer novas relações tróficas e introduzir novas espécies no ecossistema ou modificar as proporções das espécies nativas.

O que se busca atualmente é uma agricultura que apresente o menor impacto ambiental possível, que necessite de um menor consumo energético no sistema produtivo e com a maior produtividade possível, para minimizar a expansão das terras agrícolas e atender ao aumento populacional.

Embora o problema nos dias atuais não seja o volume da produção agrícola, mas sua distribuição, a população mundial vem crescendo em índices elevados e a ciência não pode deixar para pensar a questão alimentícia quando o fato já estiver instalado. Ao invés, é um dever dos cientistas buscar respostas antecipadamente à instalação dos problemas e, assim, garantir o curso da humanidade. É nesse fato que as plantas transgênicas de alto desempenho produtivo podem exercer um papel preponderante.

Riscos potenciais associados aos cultivos transgênicos

Os riscos ambientais potenciais da introdução das plantas transgênicas incluem: a) o *fluxo gênico* para espécies selvagens, que dependendo da vantagem seletiva oferecida pelo transgene poderia levar ao aumento da população de ervas daninhas; b) os efeitos colaterais indesejáveis em *organismos não-alvo*, sejam os microorganismos ou os insetos inimigos naturais presentes nas culturas, afetando a biodiversidade de um ecossistema; c) ou mesmo o aumento das chances de extinção de populações de espécies vegetais selvagens causada pela *depressão genética* devido à introdução de novos genes no ecossistema. Todos esses riscos ambientais não são exclusivos das culturas transgênicas, sendo também inerentes aos sistemas convencionais de agricultura, seja pelo emprego de novas culturas ou cultivares geneticamente melhoradas ou pelo controle agroquímico de pragas, doenças e ervas daninhas.

Entretanto, o que se conjectura mais fortemente em relação aos transgênicos é a utilização de genes

oriundos de outros domínios da vida, especialmente os genes bacterianos e virais, cujas plantas transgênicas poderiam servir de ponte genética para o surgimento de variedades ou cepas incontrolláveis pelo homem. Cada um dos pontos levantados sobre os riscos ambientais dos transgênicos é examinado abaixo.

Fluxo Gênico não intencional.

Entende-se por fluxo gênico não intencional (escape gênico) a capacidade de um gene chegar indesejavelmente e ser inserido em populações onde este gene não exista. Em relação aos transgênicos, temem-se três casos, em ordem crescente da probabilidade: a) de uma planta transgênica para organismos não relacionados, como microorganismos ou plantas de outras famílias botânicas; b) de uma planta transgênica para uma outra espécie da mesma família; c) de uma planta transgênica para a mesma espécie não transgênica.

Em relação às possibilidades do fluxo gênico dos transgênicos a outros organismos, a transferência natural de um transgene para organismos não relacionados não foi relatada até o momento, podendo ser considerada, portanto, de baixo risco. Do mesmo modo, a transferência gênica entre espécies vegetais não relacionadas é dificultada por barreiras biológicas naturais, incluindo incompatibilidades de polinização e fecundação.

A transferência de genes de uma espécie transgênica a uma espécie botanicamente relacionada é mais plausível e deve ser analisada cautelosamente. Espécies ou famílias de culturas silvestres apresentam maior potencial de fluxo gênico pela maior probabilidade de existirem outras espécies geneticamente compatíveis por cruzamento, algumas podendo ser espécies invasoras de culturas, criando-se o risco de se produzir super-ervas daninhas, dependendo do transgene. No Brasil, muitas espécies cultivadas são nativas do país ou da América do Sul e possuem espécies selvagens no país, como

POTENCIALIDADES DAS PLANTAS TRANSGÊNICAS

A possibilidade da inserção de genes de interesse produtivo ou qualitativo que antes não estavam disponíveis em uma dada espécie aumentou enormemente as perspectivas do melhoramento genético. Um dos genes mais comentados nos meios de comunicação é o que confere resistência ao glifosato, um herbicida não seletivo. A introdução desse gene em culturas como a soja facilita a tarefa de controlar as plantas daninhas no campo, ao necessitar apenas um herbicida para conter o crescimento do mato na cultura, podendo até mesmo diminuir o consumo de agroquímicos no ciclo da cultura.

Também se fala muito na mídia sobre o gene *Bt*, que confere resistência a insetos mastigadores em culturas como milho, algodão, batata, tabaco e tomate. Esse gene codifica endotoxinas *cry* (*crystal*) originárias da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis*. O cultivo de plantas *Bt* traz menor custo de produção, ao diminuir a pulverização de inseticidas contras as pragas. No caso do algodão, cujo cultivo está limitado no Brasil por causa do bicudo, o uso de cultivares *Bt* poderia trazer aumento a produtividade e reduzir o consumo de inseticidas. Alternativamente ao gene bacteriano *Bt*, já existem alternativas de genes derivados do reino vegetal na conferência de resistência a insetos, como o gene *OC1* (*orizacistatina1*), derivado do arroz.

Além das pragas, muitas culturas têm sua produção dificultada ou inviabilizada por doenças produzidas por infecções virais. No Brasil, podem-se citar exemplos como o mosaico dourado do feijoeiro, a mancha anelar do mamoeiro, o mosaico da batateira e o enrolamento da batateira. A expressão de fragmentos do gene da capa protetora do vírus em uma planta pode conferir resistência ao ataque viral, possibilitando o plantio ou o aumento da produção em áreas infestadas. Também se explora o potencial dos transgenes na conferência de resistência a estresses abióticos, como seca, salinidade e temperaturas extremas.

Apesar de muito se falar no ganho produtivo conferido pelos transgênicos, há vários estudos que objetivam o aumento da qualidade dos produtos agrícolas, como uma maior vida de prateleira dos produtos hortícolas e ornamentais e uma melhor qualidade nutricional de alimentos como o milho, a soja e o arroz. Esses produtos, ao invés de visarem facilitar o processo produtivo, visam fornecer produtos com maior qualidade ou incluir novas características de interesse direto do consumidor. Um exemplo de alimento transgênico funcional é o arroz dourado (*Golden Rice*®), que através da introdução de dois genes que codificam enzimas importantes na rota metabólica do b-caroteno, aumentam a quantidade de vitamina A no grão, o que pode ajudar a suprir a deficiência dessa vitamina em crianças de regiões pobres do globo. Na mesma linha, têm-se conduzido pesquisas para aumentar as quantidades de ferro e outros micronutrientes e vitaminas em outras culturas alimentares (Potykrus, 2001; Welch e Graham, 2004).

Algumas plantas transgênicas também têm como objetivo único o benefício do ambiente. A fitorremediação por plantas transgênicas visa a descontaminação de águas e solos poluídos pela alteração no metabolismo das plantas que permite absorver substâncias poluentes a um nível não alcançado por plantas não transgênicas. Um dos exemplos é na absorção de metais pesados (como arsênio, cádmio, chumbo, cobalto, cobre, cromo, mercúrio, níquel, lítio, selênio, zinco). As plantas podem, então, ser removidas do lugar para possibilitar um trabalho de purificação e reutilização do metal pesado absorvido.

mandioca, cacau, batata, amendoim, tomate, maracujá, goiaba e abacaxi. Em alguns casos, mesmo sendo as espécies cultivadas originárias de outros continentes, podem existir no país espécies relacionadas selvagens com potencial de serem sexualmente compatíveis. Como o caso do arroz, originário da Ásia, mas que possui espécies daninhas sexualmente compatíveis no Brasil (“arroz vermelho”). A capacidade de cruzamentos interespecíficos deve ser investigada caso a caso e nota-se uma falta de informação acerca das possibilidades dos cruzamentos existentes entre as espécies e as culturas brasileiras.

Já o caso mais plausível de fluxo gênico é a contaminação de uma lavoura não transgênica pelo pólen oriundo de culturas transgênicas da mesma espécie. Aqui é importante

lembrar a classificação das culturas vegetais em dois tipos distintos de polinização: as de fecundação cruzada (alógamas, cuja biologia favorece a dispersão do pólen no intuito de fecundar outras plantas, com taxa normalmente superior a 90% de fecundação cruzada), e as de autofecundação (autógamas, cuja biologia floral favorece a autopolinização, com um máximo de 5% de fecundação cruzada). Quanto maior a dispersão do pólen e a taxa de fecundação cruzada, maior a probabilidade de o fluxo gênico atingir locais mais distantes.

Também se deve levar em conta os vetores da polinização. Muitas espécies utilizam vetores abióticos para a dispersão, especialmente o vento e a água. Outras espécies utilizam vetores biológicos, como insetos (abelhas, mamangavas), pás-

saros (beija-flores) e mamíferos (morcegos). Uma análise do fluxo gênico no impacto ambiental deve levar em consideração a eficiência e alcance da dispersão do pólen.

O milho, originário do México, é espécie alógama e usa especialmente o vento para a dispersão de pólen. Um trabalho conduzido por Eastham e Sweet (2002) indica que a distância máxima alcançada pelo pólen do milho *Bt* foi de 100 m, enquanto uma média de 98% do pólen se restringiu aos primeiros 50 m da lavoura. Vale ressaltar que as distâncias de alcance do pólen podem variar de região para região, dependendo da variedade do milho, da força do vento no local e período de florescimento da cultura, da geografia do terreno, dos tratamentos culturais etc.

A soja, por outro lado, é espécie autógama originária do continente

asiático. Estudos conduzidos com variedades não transgênicas de soja, ao analisar a polinização natural em campo aberto no delta do Mississipi, mostraram uma taxa de polinização cruzada de 0,41% a 0,9 m e 0,03% a 5,4 m da fonte de pólen (Ray et al., 2003). Já um trabalho envolvendo dispersão de pólen transgênico da cultivar BR-16 no cerrado brasileiro relata uma taxa de 0,45% de polinização cruzada a 0,5 m, chegando a 0,14% a 1,0 m e atingindo assintoticamente a nulidade a 6,5 m da cultura transgênica (Abud et al., 2003).

Portanto, o alcance do pólen das plantas transgênicas, a possibilidade de ocorrência de fluxo gênico entre suas espécies relacionadas e o impacto que o transgene possa ter em espécies selvagens compatíveis devem ser avaliados criteriosamente. É importante ressaltar, entretanto, que o fluxo transgênico só será bem sucedido se conferir vantagem adaptativa nas condições naturais do ambiente.

Impacto das culturas transgênicas nas relações tróficas do ecossistema

Outro ponto de debate sobre os transgênicos refere-se ao seu impacto no ecossistema quanto às mudanças das relações alimentares entre os insetos, as plantas e outros organismos. O caso mais lembrado do efeito das culturas transgênicas sobre o meio ambiente é a morte das larvas de borboletas monarcas provocada pela alimentação com pólen de milho *Bt* (Losey et al., 1999). Houve ampla discussão na comunidade científica e chegou-se à conclusão que os ensaios conduzidos em laboratório não refletiriam as reais condições que as larvas enfrentariam no campo, (cuja dieta não seria exclusivamente de pólen de milho, como feito no experimento), embora o trabalho tenha contribuído para levantar o debate sobre os possíveis efeitos das plantas transgênicas sobre as relações tróficas do ecossistema.

Junto às pragas de uma lavoura co-habitam inúmeras espécies de

insetos, incluindo espécies benéficas que atuam como controladoras dos níveis das pragas (espécies de parasitóides e predadores de insetos, como vespas e joaninhas). As plantas transgênicas que possuem resistência a insetos abaixam os níveis das pragas tão drasticamente, que as relações ecológicas do sistema se modificam e podem também levar à perda da fauna benéfica da lavoura.

É inútil, porém, qualquer discussão sobre o impacto das culturas transgênicas sobre as populações de insetos (benéficos ou pragas) sem relacioná-los com os impactos das culturas não transgênicas e os tratamentos culturais tradicionais, como a pulverização das culturas com inseticidas de amplo espectro, que também terão vários níveis de impacto sobre a população de insetos benéficos. Também se deve ter em mente que análises ecológicas preliminares conduzidas em laboratório podem não refletir as condições encontradas no campo e que, dependendo da metodologia adotada, podem levar a, quando muito, indicações das possibilidades a serem alcançadas no campo. Também se levanta a discussão sobre a presença da proteína inseticida nos tecidos dos transgênicos durante todo o ciclo da cultura, em comparação à presença ocasional de inseticidas nos cultivos tradicionais, que são degradados após um período de carência de dias ou semanas.

Head et al. (2001) estudou a presença da proteína *Cry1Ab* nos tecidos de pragas alimentadas com milho transgênico, para analisar o potencial de risco de exposição à proteína pelos inimigos naturais dessas pragas. O trabalho concluiu que os níveis da proteína transgênica encontrados nos tecidos das pragas eram extremamente baixos para serem danosos ao metabolismo dos inimigos naturais. Dessa forma, pelo menos diretamente, a proteína *Cry1Ab* parece segura ao nível trófico superior aos das pragas das culturas.

O impacto da canola transgênica com o gene da *orizacistatina1 (OC1)* sobre a população de joaninhas (*Harmonia axyridis*) foi avaliado por

Ferry et al. (2003), concluindo que o consumo de pragas que se alimentam de cultura transgênica não teve impacto no desenvolvimento nem na sobrevivência da espécie predadora de insetos. Essa conclusão é reforçada pelos estudos de Bouchard et al. (2003), que encontraram uma compensação digestiva no metabolismo dos predadores naturais de insetos que consumiam pragas da batata transgênica com a proteína *OC1*.

Schuler et al. (1999) confirmaram que a presença da toxina *Bt* em larvas da traça da canola não teve efeito significativo na população de vespas parasitóides, mas que os parasitóides não emergiam das larvas de traças alimentadas por plantas transgênicas porque as traças morriam antes que as vespas pudessem se desenvolver ou emergir delas. Concluíram, assim, que as plantas *Bt* podem até apresentar vantagens ecológicas sobre a aplicação de inseticidas de amplo espectro.

Também não se deve esquecer que os altos índices de insetos-praga na lavoura já é um manifesto da modificação descontrolada do ecossistema introduzida pela agricultura convencional, ao utilizar inseticidas que não distinguem entre pragas e insetos benéficos e ao introduzir novas espécies ou aumentar seu número no ecossistema.

Os cientistas também consideram grande o potencial de os insetos desenvolverem resistência à proteína *Bt* no médio e longo prazo (Rahman et al., 2004; Tabashnik et al., 2003). Liu et al. (1999) fizeram estudos em laboratório e desenvolveram modelos matemáticos para a seleção a favor da resistência à proteína *Bt* pela traça do algodoeiro (*Pectinophora gossypiella*), concluindo que a possível seleção natural de indivíduos resistentes à toxina *Bt* poderia levar à formação de toda uma população de pragas resistentes. O trabalho publicado por Zhao et al. (2000) também relata a rápida adaptação de traças à proteína *Cry1C* em brócolis transgênico.

Uma estratégia levantada para controlar ou adiar a emergência da resistência dos insetos a toxinas

transgênicas é a utilização concomitante de dois transgenes bacterianos de indução de resistência a insetos (piramidação; Zhao et al., 2003). Outra estratégia para postergar o surgimento de insetos resistentes às toxinas transgênicas em um ecossistema é o plantio de plantas sem expressão da toxina perto da lavoura com transgênicos, objetivando a criação de refúgio para os elementos faunísticos locais, incluindo pragas não resistentes ao *Bt*, que seriam fonte genética de susceptibilidade à toxina para gerações futuras de insetos. Modelos matemáticos indicam que a resistência dos insetos pode ser adiada consideravelmente com a adoção da estratégia de refúgios (Gould, 1998). Entretanto, Chilcutt e Tabashnik (2004) ponderam que a contaminação dos refúgios pelo fluxo gênico possa limitar a eficiência dessa estratégia nas pragas das espigas de milho.

Toxicidade das proteínas transgênicas à biota do solo

O solo é um ambiente complexo composto por elementos minerais (areia, argila e silte), materiais orgânicos em decomposição e uma comunidade biológica que envolve microorganismos, raízes e animais inferiores, incluindo muitos exemplos de relações simbióticas. Teme-se que culturas transgênicas introduzidas no ambiente lancem no solo, através dos exsudatos de suas raízes, compostos nocivos aos microorganismos e que modifiquem suas relações ecológicas.

Mendensohn et al. (2003) estudou a bioatividade das proteínas *Bt* no solo e nos tecidos das plantas e concluiu que a proteína *cry1Ab* tinha meia-vida (DT_{50}) média de 1,6 dia com o tecido vegetal no solo; de 25,6 dias com o tecido vegetal não exposto ao solo e 8,3 dias com a proteína purificada colocada diretamente no solo. Uma degradação de 90% (DT_{90}) foi atingida, respectivamente, com 15; 40,7 e 32,5 dias. Note-se, porém, que as conclusões do estudo estão contidas nas condições edafoclimáticas utilizadas no experimento e não devem ser

extrapoladas para outras condições sem experimentação *in loco*. Nesse mesmo trabalho, também foi analisada em organismos não-alvo a toxicidade das proteínas *cry* derivadas de pólen, farinha de milho ou proteína purificada e adicionada ao solo. Não foram encontrados, porém, efeitos adversos nos organismos estudados e nas dosagens estudadas.

Transgênicos e plantas daninhas

A utilização de plantas transgênicas com genes que conferem resistência a herbicidas de amplo espectro tende a facilitar os tratos culturais e a manter a cultura sem competidores (“no limpo”), mas, além do perigo do fluxo gênico discutido anteriormente, também pode ocorrer a seleção natural de plantas que sejam resistentes aos herbicidas e, assim, induzir a invasão de plantas daninhas à cultura cuja pulverização com o herbicida seja inócua tanto à cultura transgênica, quanto à planta daninha, criando-se “super-plantas daninhas”. O caso mais conhecido de cultura resistente a um herbicida é o da soja resistente ao glifosato (Roundup®, Monsanto), herbicida de amplo espectro, o qual poucas espécies vegetais têm mecanismo de resistência ou tolerância.

Um gene de resistência de herbicida alternativo derivado de plantas é o *abas*, da *Arabidopsis thaliana*. Esse gene codifica a enzima *ácido acetohidroxi sintase*, cuja presença confere resistência ao herbicida de amplo espectro imazapyr (Arsenal®, BASF), de longo efeito residual (seis meses a dois anos no solo), mas com pouco efeito na microbiota do solo e baixa toxicidade nos organismos animais (classificação toxicológica IV, ou seja, um produto que normalmente não oferece perigo). O Brasil, através da Embrapa, já gerou uma variedade de soja transgênica com o gene *abas*, chamada BR-16.

Também são causa de preocupação as sementes de culturas resistentes a herbicidas que ficam no solo após a colheita, caso a próxima cul-

tura a ser instalada utilizar o mesmo herbicida para o controle das plantas daninhas. As plantas emergentes das sementes da cultura passada atuarão, então, como plantas daninhas da nova cultura e causando menor produtividade da nova cultura dada à competição instalada entre as duas espécies na lavoura.

Surgimento de novas cepas de vírus

Constituídos basicamente de uma capa protéica e RNA (ou DNA, em alguns casos), os vírus são parasitas obrigatórios que necessitam usar a maquinaria metabólica de células hospedeiras para se multiplicarem. Os organismos eucarióticos (fungos, protozoários, vegetais e animais) têm mecanismos de defesa contra infecções virais, mas os próprios vírus têm uma enorme plasticidade genética que lhes permite adquirir rapidamente novas características e driblar os mecanismos de defesa de suas células hospedeiras.

O melhoramento genético clássico tem colaborado na criação de cultivares resistentes a diversas doenças virais, mas há muitos casos em que fontes naturais de resistência não estão disponíveis. Uma das formas de indução de resistência viral é a imunização de células vegetais pela inserção e expressão de um fragmento do gene que codifica a proteína da capa do vírus no genoma da planta. Entretanto, teme-se que novas cepas virais possam ser originadas a partir de eventos naturais de recombinação genética, como transcapsidação, encapsidação heteróloga ou complementação (Tepfer, 2003), cepas essas que poderão trazer diferentes características, como a capacidade de infectar novas espécies, de utilizar novos vetores, possuir novos mecanismos de infecção ou maior virulência.

O primeiro exemplo de planta transgênica resistente a vírus foi um tabaco com um transgene do vírus do mosaico (TMV), enquanto hoje existem dezenas de plantas transgênicas, como batata, ervilha, feijão, mamão, melão, pepino, tomate, trigo, uva, cujo objetivo é in-

duzir resistência viral. Entretanto, já foram identificados eventos de recombinação entre o genoma de planta transgênica e o genoma de vírus em condições de laboratório (Borja et al., 1999) e de campo (Vigne et al., 2004), levantando questões acerca da geração de possíveis cepas virais com propriedades diferentes das originalmente geradas.

Outra estratégia seria o uso de RNAs satélites (parasitas moleculares naturais de alguns vírus). Essa metodologia foi verificada contra o vírus do mosaico do pepino e, apesar de o nível de proteção ao ataque viral ter sido considerado efetivo, o risco de mutação numa forma necrogênica (infeciosa) foi considerado excessivo para uso extensivo e essa abordagem foi abandonada. Um caso a ser lembrado é a epidemia que ocorreu no final da década de 1980 em campos de tomateiros da Itália e da Espanha, causada por RNAs satélites necrogênicos não transgênicos. Estudos chegaram à conclusão que mutações num único nucleotídeo do genoma do RNA satélite de uma cepa não necrogênica poderia ser suficiente para transformar-la em necrogênica (Tepfer, 2003).

Estudos também apontam que outra opção à indução de resistência baseada nos mecanismos de defesa das plantas são estratégias moleculares de indução de resistência nos mecanismos de ataque e proliferação dos vírus, como a resistência mediada pela replicase ou pela proteína de movimento do vírus (Wilson, 1993). Há cientistas que, assim como na resistência contra insetos, apostam na piramidação transgênica de indução de resistência viral como uma estratégia eficiente na produção de plantas com resistência duradoura (Prins, 2003), enquanto outra corrente aposta no desenvolvimento de proteínas antivirais (Uhrig, 2003).

É possível, entretanto, que estudos detalhados dos mecanismos moleculares da infecção viral e nos modos de ação dos genes a serem utilizados originem em alguns casos estratégias transgênicas potencialmente seguras quanto aos possíveis

efeitos de encapsidação heteróloga e a transmissão de vírus por seus vetores, enquanto em outros casos ainda não foram desenvolvidos meios de eliminação dos riscos potenciais associados à resistência viral transgênica (Tepfer, 2002).

Avaliação dos riscos ambientais

A avaliação dos riscos ambientais dos cultivos transgênicos é fundamental para identificar os riscos potenciais dessa tecnologia, dar segurança à população e auxiliar os cientistas a eliminar esses riscos. Em qualquer estudo de análise de risco ambiental, deve-se levar a cabo um estudo comparativo com manejos agrícolas tradicionais, para evitar um julgamento tendencioso.

Também se deve ter em mente que estudos conduzidos em laboratório na maioria das vezes não condizem com as condições encontradas no campo. Dessa forma, os resultados obtidos nesses experimentos poderão apenas indicar situações ou tendências, mas não poderão afirmar que a dinâmica ecológica natural se comportará como nos ensaios.

Um procedimento posterior aos ensaios laboratoriais pode ser a avaliação em campos de produção, onde plantios transgênicos são conduzidos em situações reais de produção e comparados com os cultivos convencionais. Essa é possivelmente a metodologia mais adequada para se tomar conclusões científicas sobre os transgênicos. Recentes avaliações em campos de produção de transgênicos tolerantes a herbicidas foram realizadas na Grã-Bretanha com respeito ao manejo e contexto agrônômico (Champion et al., 2003); os efeitos na abundância e diversidade de ervas daninhas (Heard et al., 2003a); os efeitos sobre espécies individuais (Heard et al., 2003b); as respostas da fauna artrópode (Haughton et al., 2003); das relações tróficas entre invertebrados e plantas (Hawes et al., 2003); e avaliações dos invertebrados e da vegetação em campos marginais aos campos com transgênicos (Roy et al., 2003), além do racional científico e uma

interpretação das avaliações em campos de produção (Squire et al., 2003). Estudos similares em condições tropicais são recomendáveis para se chegar a uma conclusão do impacto dos transgênicos sobre o ambiente e perigos inerentes.

A análise de risco de plantas transgênicas resistentes a vírus foi discutida por Tepfer (2002), examinando riscos potenciais associados a várias estratégias moleculares e concluiu que a análise de risco do uso desses transgênicos também deve levar em conta um estudo comparativo das vantagens e desvantagens das plantas transgênicas e não transgênicas para se chegar a uma decisão ambientalmente sustentável.

Estratégias para diminuir o potencial de risco ambiental das plantas transgênicas

No nível molecular, pode-se optar por estratégias alternativas como: a) uso de promotores de expressão específicos para tecidos ou somente em alguns estádios do desenvolvimento, ao invés do uso de promotores constitutivos; b) sistemas induzíveis quimicamente, cujos promotores são ativados com aplicações de produtos pouco tóxicos, como o álcool (Deveaux et al., 2003); c) uso de transgenes eucarióticos em detrimento de genes e seqüências reguladoras oriundas de bactérias e vírus; d) evitar o uso de genes de resistência a antibióticos durante a seleção de plantas, mas preferir alternativas como genes de resistência a compostos sintéticos (Lohar et al., 2001); e) e tecnologia de recombinação pós-transformação, em que os genes marcadores de seleção co-inseridos no genoma da planta são retirados. É importante notar, entretanto, que nem todas essas técnicas já estão disponíveis para uso comercial, sendo que algumas ainda estão sendo testadas em modelos biológicos, mas poderão estar disponíveis num futuro próximo.

Conclusões

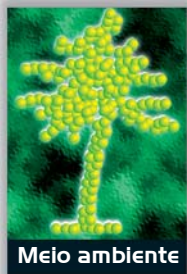
O debate sobre as implicações

ambientais envolvendo as plantas transgênicas é apenas a parte técnico-científica da discussão sobre o assunto, a qual também abrange aspectos econômicos, políticos, sociais e éticos. É importante salientar, porém, que os vários transgênicos já produzidos são distintos em relação à espécie da cultura e suas relações trófico-ecológicas, biologia floral e mecanismos de polinização, probabilidade de fluxo gênico não intencional, além de cada transgene conferir uma característica peculiar, de maior ou menor potencial de impacto no ambiente, de maior ou menor grau de ganho econômico, de maior ou menor interesse social. Deve-se, portanto, ser criada uma política aberta de análise caso a caso, além de se permitir à sociedade o acesso aos dados científicos numa linguagem clara, didática e não preconceituosa acerca dos transgênicos para que a sociedade forme uma opinião e se decida conscientemente sobre o consumo ou não das plantas transgênicas.

Referências

- Abud S, Souza PIM, Moreira CT, Andrade SRM, Ulbrich AV, Vianna GR, Rech EL, Aragão FJL.** 2003. Dispersão de pólen em soja transgênica na região do Cerrado. Pesquisa Agropecuária Brasileira 38:1229-1235
- Borja M, Rubio T, Scholthof HB, Jackson AO.** 1999. Restoration of wild-type virus by double recombination of tombusvirus mutants with a host transgene. Molecular Plant-Microbe Interactions 12:153-162
- Bouchard E, Cloutier C, Michaud D.** 2003. Oryzacystatin I expressed in transgenic potato induces digestive compensation in an insect natural predator via its herbivorous prey feeding on the plant. Molecular Ecology 12:2439-2446
- Champion GT, May MJ, Bennett S, Brooks DR, Clark SJ, Daniels RE, Firbank LG, Haughton AJ, Hawes C, Heard MS, Perry JN, Randle Z, Rossall MJ, Rothery P, Skellern MP, Scott RJ, Squire GR, Thomas MR.** 2003. Crop management and agronomic context of the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. Philosophical Transactions of the Real Society of London B 358:1801-1818
- Chilcutt CF, Tabashnik BE.** 2004. Contamination of refuges by *Bacillus thuringiensis* toxin genes from transgenic maize. Proceedings of the National Academy of Science of the USA 101:7526-7529
- Conko G.** 2003. Safety, risk and the precautionary principle: rethinking precautionary approaches to the regulation of transgenic plants. Transgenic Research 12:639-647
- Deveaux Y, Peaucelle A, Roberts GR, Coen E, Simon R, Mizukami Y, Traas J, Murray JA, Doonan JH, Laufs P.** 2003. The ethanol switch: a tool for gene-specific induction during plant development. Plant Journal 36:918-930
- Eastham K, Sweet J.** 2002. Genetically modified organisms (GMOs): the significance of gene flow through pollen transfer. European Environment Agency. Copenhagen, Denmark
- FAO.** 2001. Ethical issues in food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma. 32p. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/003/X9601e/X9601e00.pdf>
- Ferreira ABH.** 2001. Novo Aurélio Século XXI: o dicionário da língua portuguesa. Nova Fronteira, Rio de Janeiro. 4th ed., 2128p.
- Ferry N, Raemackers JM, Majerus MEN, Jouanin L, Port G, Gatehouse A, Gatehouse AMR.** 2003. Impact of oilseed rape expressing the insecticidal cysteine protease inhibitor oryzacystatin on the beneficial predator *Harmonia axyridis* (multicoloured Asian ladybeetle). Molecular Ecology 12:493-504
- Gould F.** 1998. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. Annual Review of Entomology 43:701-726
- Haughton AJ, Champion GT, Hawes C, Heard MS, Brooks DR, Bohan DA, Clark SJ, Dewar AM, Firbank LG, Osborne JL, Perry JN, Rothery P, Roy DB, Scott RJ, Woiwod IP, Birchall C, Skellern MP, Walker JH, Baker P, Browne EL, Dewar AJG, Garner BH, Haylock LA, Horne SL, Mason NS, Sands RJN, Walker MJ.** 2003. Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. II. Within-field epigeal and aerial arthropods. Philosophical Transactions of the Real Society of London B 358:1863-1877
- Hawes C, Haughton AJ, Osborne JL, Roy DB, Clark SJ, Perry JN, Rothery P, Bohan DA, Brooks DR, Champion GT, Dewar AM, Heard MS, Woiwod IP, Daniels RE, Young MW, Parish AM, Scott RJ, Firbank LG, Squire GR.** 2003. Responses of plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. Philosophical Transactions of the Real Society of London B 358:1899-1913
- Head G, Brown CR, Groth ME, Duan JJ.** 2001. *Cry1Ab* protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. Entomologia Experimentalis et Applicata 99:37-45
- Heard MS, Hawes C, Champion GT, Clark SJ, Firbank LG, Haughton AJ, Parish AM, Perry JN, Rothery P, Scott RJ, Skellern MP, Squire GR, Hill MO.** 2003a. Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant crops. I. Effects on abundance and diversi-

- ty. Philosophical Transactions of the Real Society of London B 358:1819-1832
- Heard MS, Hawes C, Champion GT, Clark SJ, Firbank LG, Haughton AJ, Parish AM, Perry JN, Rothery P, Roy DB, Scott RJ, Skellern MP, Squire GR, Hill MO.** 2003b. Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant crops. II. Effects on individual species. Philosophical Transactions of the Real Society of London B 358:1833-1846
- Liu Y-B, Tabashnik BE, Dennehy TJ, Patin AL, Bartlett AC.** 1999. Development time and resistance to *Bt* crops. Nature 400:519
- Lohar DP, Schuller K, Buzas DM, Gresshoff PM, Stiller J.** 2001. Transformation of *Lotus japonicus* using the herbicide resistance *bar* gene as a selectable marker. Journal of Experimental Botany 52:1697-1702
- Losey JE, Rayer LS, Carter ME.** 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. Nature 399:214
- Mendelsohn M, Kough J, Vaituzis Z, Matthews K.** 2003. Are *Bt* crops safe? Nature Biotechnology 21:1003-1009
- Morris J** (ed.) 2000. Rethinking Risk and the Precautionary Principle. Butterworth-Heinemann, Oxford, United Kingdom
- ONU.** 1992. Rio Declaration on Environmental and Development. UN Doc. A/CONF.151/5/Ver.1. United Nations, New York
- Potrykus I.** 2001. Golden rice and beyond. Plant Physiology 125:1157-1161
- Prins M.** Broad virus resistance in transgenic plants. 2003. Trends in Biotechnology 21:373-375
- Rahman MM, Roberts HL, Sarjan M, Asgari S, Schmidt O.** 2004. Induction and transmission of *Bacillus thuringiensis* tolerance in the flour moth *Ephestia kuehniella*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 101:2696-2690
- Ray JD, Kilen TC, Abel CA, Paris RL.** 2003. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. Environmental Biosafety Research 2:133-138
- Roy DB, Bohan DA, Haughton AJ, Hill MO, Osborne JL, Clark SJ, Perry JN, Rothery P, Scott RJ, Brooks DR, Champion GT, Hawes C, Heard MS, Firbank LG.** 2003. Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crops subject to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. Philosophical Transactions of the Real Society of London B 358:1879-1898
- Sandin P.** 1999. Dimensions of the precautionary principle. Human Ecology Risk Assessment 5:889-907
- Schuler TH, Potting RPJ, Denholm I, Poppy GM.** 1999. Parasitoid behaviour and *Bt* plants. Nature 400:825-826
- Squire GR, Brooks DR, Bohan DA, Champion GT, Daniels RE, Haughton AJ, Hawes C, Heard MS, Hill MO, May MJ, Osborne JL, Perry JN, Roy DB, Woiwod IP, Firbank LG.** 2003. On the rationale and interpretation of the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. Philosophical Transactions of the Real Society of London B 358:1779-1799
- Sustein CR.** 2002. The paralyzing principle. Regulation, winter 2002-2003: 32-37
- Tabashnik BE, Carriere Y, Dennehy TJ, Morin S, Sisterson MS, Roush RT, Shelton AM, Zhao JZ.** 2003. Insect resistance to transgenic *Bt* crops: lessons from the laboratory and field. Journal of Economic Entomology 96:1031-1038
- Tepfer M.** 2003. Biosafety considerations relevant to virus-resistant transgenic plant, in particular to tomato resistant to CMV. In: Collection of Biosafety Reviews. ICGEB, Italy, p.84-95
- Tepfer M.** 2002. Risk assessment of virus-resistant transgenic plants. Annual Review of Phytopathology 40:467-491
- Uhrig JF.** 2003 Response to Prins: broad virus resistance in transgenic plants. Trends in Biotechnology 21:376-377
- Vigne E, Komar V, Fuchs M.** 2004. Field safety assessment of recombination in transgenic grapevines expressing the coat protein gene of *Grapevine fanleaf virus*. Transgenic Research 13:165-179
- Welch RM, Graham RD.** 2004. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. Journal of Experimental Botany 55:353-364
- Wilson TMA.** 1993. Strategies to protect crop plants against viruses: pathogen-derived resistance blossoms. Proceedings of the National Academy of Science of USA 90:3134-3141
- Zhao JZ, Cao J, Li Y, Collins HL, Roush RT, Earle ED, Shelton AM.** 2003. Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution. Nature Biotechnology 21:1493-1497
- Zhao JZ, Collins HL, Tang JD, Cao J, Earle ED, Roush RT, Herrero S, Escriche B, Ferre J, Shelton AM.** 2000. Development and characterization of diamondback moth resistance to transgenic broccoli expressing high levels of *Cry1C*. Applied Environmental Microbiology 66:3784-3789



O PRINCÍPIO DA PRECAUÇÃO

Princípio ético relevante para a numerosa sociedade tecnológica atual e futura



Reginaldo Lopes Minaré

Bacharel em Ciências Jurídicas
Mestre em Direito pela Universidade Metodista de
Piracicaba- UNIMEP
rminare@uol.com.br

Francis Bacon (1561-1626), em sua obra *Novum organum*, afirmou que a ciência está destinada a proporcionar ao homem o domínio sobre a natureza. Considerado o profeta da técnica, o pensamento de Francis Bacon está na base da estrutura da moderna sociedade tecnológica.

Tanto é, que o filósofo Martin Heidegger (1889-1976), em sua obra *O fim da filosofia ou a questão do pensamento*, ao explicar indagação feita pelo professor Kojima, sobre qual o significado da expressão europeização do mundo, observou que se a expressão for considerada sob o ponto de vista de seu domínio planetário, para identificar a seu principal elemento necessário se faz perguntar: De onde vem este domínio? De que retira seu estranho poder? Qual o elemento que nele se apresenta dominador?

Após formular as perguntas que julgou necessárias à reflexão do tema, Heidegger se mostrou convicto ao afirmar que o elemento que fornece a força conquistadora e dominadora que integra o significado da expressão europeização do mundo, não é outra senão a técnica moderna.

Sem dúvidas, o entendimento de Heidegger foi brilhante.

Na atualidade, a União Européia, dando seqüência à estratégia de Lisboa, adotada em 2000, comunicou em 2003 o programa - "Política de inovação: atualizar a abordagem da União no contexto da estratégia de Lisboa" -, cujo objetivo é atingir o investimento de 3% do Produto

Interno Bruto – PIB em investigação e desenvolvimento e fazer da União Européia a economia mais dinâmica e competitiva do mundo até 2010.

Segundo a Comissão Européia, essa política de inovação tecnológica contribuirá para formar um quadro coerente para o desenvolvimento da política empresarial que impulsiona a competitividade das empresas, que contribui para o crescimento da economia da Europa.

A inovação, no entendimento da Comissão Européia, consiste na produção, assimilação e exploração bem sucedida da novidade nos domínios econômico e social, e permite às empresas conquistar novos mercados ou resistir à concorrência. Assumindo formas diversas, as inovações vão da invenção proveniente da investigação e do desenvolvimento à adaptação de processos de produção, à exploração de novos mercados, à utilização de novas abordagens organizacionais ou à criação de novos conceitos de comercialização.

Embora considere ainda não se fazer sentir o atraso em matéria de inovação relativamente aos Estados Unidos e ao Japão, a Comissão Européia entende ser importante que a União Européia desenvolva uma política de inovação capaz de recuperar o atraso que tem relativamente aos seus principais concorrentes.

Constata-se, portanto, claramente, que a União Européia pretende retornar à posição que sempre ocupou, ou seja, à vanguarda da sociedade tecnológica, que tem seu marco inicial na Europa insular em meados do século XVIII, e segue a orientação contida no pensamento baconiano, ou seja, a natureza deve ser conhecida e seu conhecimento usado para implementar técnicas de produção.

A palavra técnica, oriunda do grego *technè*, que significa: ter conhecimento na produção, sintetiza perfeitamente a capacidade e a qualidade de produção que o homem moderno passou a ser detentor após o desenvolvimento das ciências da natureza, cujo grande conhecimento produzido permitiu a profissionalização da ciência e a implementação do saber fazer, ou seja, do saber produzir de uma forma até então nunca experimentado pela humanidade. Já o termo produzir, derivado do latim *producere*, que significa: fazer existir, conduzir à sua manifestação, tornar acessível e disponível algo que antes não estava ai presente, constitui, por sua vez, o objeto para o qual o aperfeiçoamento técnico é direcionado.

Com o advento da globalização e a crescente competitividade por mercados, a busca pela melhor qualificação técnica vem promovendo uma verdadeira disputa, onde os Estados, principalmente os mais poderosos, concentram de forma crescente seus esforços e investimentos nas pesquisas científicas destinadas à implementação de novas técnicas. Ter o conhecimento no momento da produção é um fator que impulsiona o desenvolvimento e a competitividade da indústria e, conseqüentemente, do comércio, que representam a grande fonte da riqueza material dos Estados.

Nessa competição entre os países, aqueles subdesenvolvidos ou em desenvolvimento possuem, por um lado, a vantagem comparativa com o conhecimento científico e tecnológico já produzido e, por outro, a desvantagem da carência de recursos financeiros e humanos, pois para absorver e bem utilizar o conhecimento científico e tecnológico estrangeiro, necessita-se de pessoas preparadas e de recursos financeiros

para preparar pessoas, ou seja, há a necessidade de melhorar a reserva do país em matéria de trabalhadores educados, que por si só já representa um ativo muito importante. Como bem observou Noam Chomsky, em sua obra *Regras e representações - a inteligência humana e seu produto*, entre a capacidade de fazer algo e a capacidade de saber fazer algo há, em particular, o elemento intelectual fundamental do saber fazer.

Podemos, portanto, constatar que se um país subdesenvolvido ou em desenvolvimento pretender trilhar os caminhos que atualmente levam ao que é definido como desenvolvimento, consolidar uma economia moderna e participar ativamente de um mundo cada vez mais globalizado e tecnológico, será necessário superar a grande distância que separa sua ciência e inovação tecnológica daquelas praticadas nos países industrializados mais avançados, sob pena de permanecerem defasados e, conseqüentemente, empurrados cada vez mais para a margem do progresso.

Nessa competição pelo domínio da melhor técnica, que é fonte de riqueza material dos Estados, e, inclusive, necessária para afastar a concretização da teoria de Thomas Malthus (1766–1834), segundo a qual o crescimento da população tende sempre a superar a produção de alimentos, pois ela cresce em progressão geométrica enquanto a produção de alimentos aumenta em progressão aritmética, a comunidade humana terá que conviver e administrar os riscos decorrentes da organização dessa nova e numerosa sociedade global.

Nesse contexto, a palavra risco, do latim *risque*, significa a probabilidade de um perigo com ameaça física para o homem e o ambiente de forma geral. Por sua vez, a palavra probabilidade, do latim *probabilitas*, significa a característica do que é provável, do que pode ocorrer, o grau de segurança que se espera da realização de uma atividade.

A preocupação com o risco, principalmente a preocupação de mantê-lo dentro de um grau de segurança aceitável, garantindo a preservação do meio ambiente dentro de um contexto que vai além do curto e médio prazo, chegando ao longo prazo e incluindo o bem estar das futuras gerações no contexto da reflexão, motivou a comunidade internacional a adotar gradativamente o *princípio da precaução* como princípio ético orientador e princípio jurídico motivador da ação humana na comunidade global.

Oriunda do grego *arché* e do latim *principium*, a palavra princípio significa o primeiro instante do ser de alguma coisa, o ponto considerado como começo ou origem de algo ou de um comportamento, o fundamento ou base de um raciocínio ou discurso.

Do latim *praecautio*, a palavra precaução significa o agir com prudência, com cuidado, com cautela para evitar ou prevenir os inconvenientes, embaraços ou danos que podem temer-se, a atitude de prudência que possibilita a reflexão que pode levar ao conhecimento antecipado do grau de probabilidade de ocorrência de um dano ou prejuízo, a ação aplicada ou medida tomada para evitar um mal.

Podemos, portanto, inferir que uma ação fundada no princípio da precaução constitui uma ação realizada, desde seu início, com moderação, orientando o agir com consciência do futuro para acautelar-se com relação aos resultados da própria ação, sempre procurando evitar que a ação provoque, no momento ou no futuro, um resultado danoso.

No âmbito internacional, com a elaboração da Carta Mundial da Natureza, que foi adotada pela Assembleia Geral das Nações Unidas em 1982, o princípio da precaução começou a ser inserido no contexto jurídico.

Uma década após a elaboração da Carta Mundial da Natureza, a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, junho de 1992, proclamaram a Declaração do Rio Sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, cujo princípio 15 dispõe da seguinte forma: *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.*

O princípio da precaução também está presente na Convenção Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima, na Convenção sobre Diversidade Biológica, e no Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança.

No âmbito doméstico, embora não figure expressamente no texto da atual Constituição da República Federativa do Brasil, alguns entendem que o princípio da precaução está implícito no artigo 225 da mesma, pois este artigo afirma que todos têm direito ao meio ambiente equilibrado,

bem essencial à sadia qualidade de vida, e que incumbe ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações. Considerando a preocupação com a preservação da qualidade de vida atual e futura que o texto apresenta, trata-se de um entendimento com o qual se pode concordar.

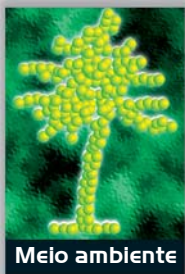
Todavia, de forma expressa, o princípio da precaução foi introduzido no Brasil por meio da incorporação das normas internacionais pelo direito nacional.

Recentemente, a Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, que regula os incisos II, IV e V do § 1º do artigo 225 da Constituição Federal, e estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, dispõe em seu artigo 1º que: “Esta Lei estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização sobre a construção, o cultivo, a produção, a manipulação, o transporte, a transferência, a importação, a exportação, o armazenamento, a pesquisa, a comercialização, o consumo, a liberação no meio ambiente e o descarte de organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, tendo como diretrizes o estímulo ao avanço científico na área de biossegurança e biotecnologia, a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal, e a observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente.”

Trata-se, portanto, de um princípio abrangente que atinge grande parte dos segmentos que compõem o conjunto da economia baseada no conhecimento, e sua interpretação e aplicação devem ser realizadas de forma muito razoável.

Determinar qual é o nível de risco “aceitável” para a sociedade, em qualquer segmento, é uma responsabilidade científica e política. As instâncias de decisão, quando confrontadas com uma situação de probabilidade de risco potencial de uma atividade ou produto, podem lançar mão do princípio da precaução e identificar, através duma avaliação científica e objetiva, o risco permitido ou proibido.

Todavia, as instâncias de decisão devem cuidar para não justificarem uma tomada de decisão arbitrária com o princípio da precaução, que só deve ser aplicado após a avaliação dos dados científicos disponíveis e a identificação do grau de risco oferecido.



RESISTÊNCIA DE INSETOS A PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS



Relevância da implantação de estratégias pró-ativas para o manejo da resistência

Samuel Martinelli

Engenheiro Agrônomo, M. S., Doutorando em Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo
smartine@esalq.usp.br

Celso Omoto

Engenheiro Agrônomo, M. S., Pb. D., Professor da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo
celomoto@esalq.usp.br

Imagens cedidas pelos autores

1. Introdução

As plantas geneticamente modificadas (GM) resistentes a insetos foram resultantes da combinação dos conhecimentos e avanços tecnológicos da engenharia genética e da moderna biotecnologia, e podem ser consideradas como uma tática adicional de controle em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) em diversos agroecossistemas. Neste contexto, tem sido crescente a utilização de plantas GM que possuem a inserção de genes que codificam a produção de toxinas com ação inseticida, os quais foram obtidos a partir da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (*Bt*). Entretanto, a obtenção de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos também inclui a possibilidade de uso de genes de outras espécies de plantas para produção de lectinas e inibidores de proteinases (Loc et al. 2002; Ceci et al. 2003), ou ainda a utilização de genes de animais para expressão de neurohormônios (Fitches et al. 2002) e inibidores enzimáticos (Cristeller et al. 2002). Além disso, outras estratégias moleculares alternativas estão sendo direcionadas para o melhor entendimento da base molecular dos mecanismos endógenos de resistência, os quais as plantas manifestam em resposta ao ataque de vários insetos herbívoros (Gatehouse 2002; Ferry 2004). Entretanto, a aplicação prática atual da biotecnologia de plantas na proteção de cultivos tem se concentrado no uso de plantas GM

resistentes a insetos como o algodão e o milho que expressam proteínas inseticidas de *Bt*.

As experiências com o uso de plantas GM resistentes a insetos têm permitido a identificação de benefícios diretos proporcionados por esta tecnologia aos agricultores e meio ambiente. Na China, o algodão *Bt* tem sido cultivado desde 1997 e atualmente responde por 50% da área total cultivada com algodão naquele país. O uso da tecnologia do algodão *Bt* proporcionou uma redução de 78.000 toneladas na quantidade de inseticidas utilizados em 2001, e em algumas províncias chinesas foi verificado uma redução de 20 para 7 aplicações de inseticidas por safra de algodão (Wu et al. 2005). Conseqüentemente, houve o registro de diminuição em até 75% nos casos de intoxicação de produtores rurais por inseticidas (Pray et al. 2002; Toenniessen et al. 2003; Hossain et al. 2004). Além disso, na região Noroeste da China foi observada a reversão do quadro de resistência a inseticidas como lambda-cialotrina (piretróide) e endosulfan (ciclodieno), o qual já se encontrava previamente instalado e documentado naquela região (Wu et al. 2005). Na África do Sul o algodão *Bt* tem auxiliado os agricultores na implantação de programas de MIP, o que também tem resultado nas reduções de uso de inseticidas, índices de intoxicação de trabalhadores por defensivos, e custo de produção da cultura (Thirtle et. 2003). Entretanto, a redução no uso de inseticidas promovida pelo uso de plantas GM

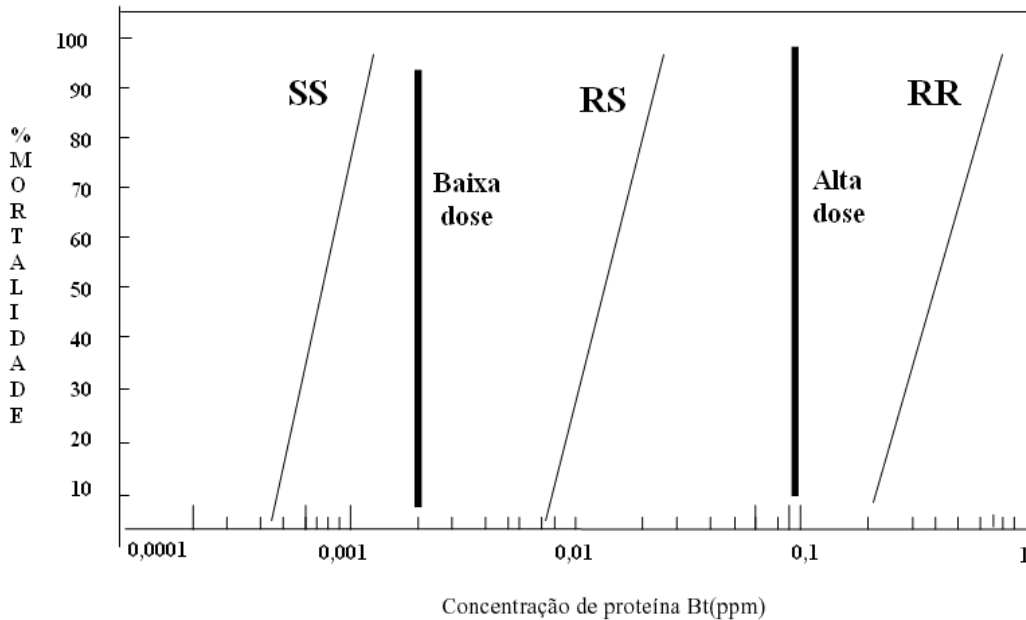


Figura 1. Respostas de indivíduos homocigotos suscetíveis (SS), resistentes (RR) e heterocigotos (RS) mediante uso de baixa dose e alta dose (Modificado de Gould, 1998)

resistentes apresenta repercussões positivas em outros aspectos relacionados à obtenção, distribuição e uso destes defensivos agrícolas. Por exemplo, foi observada a diminuição na taxa de exploração de matérias primas utilizadas na fabricação de inseticidas, e por conseqüência reduções significativas na poluição provocada por rejeitos industriais, além de reduções nos custos empresariais e ambientais decorrentes do transporte e armazenamento de inseticidas. Por fim, as plantas GM resistentes a insetos colaboram para que se diminua a produção e o acúmulo de embalagens de agrotóxicos, as quais muitas vezes não possuem um destino seguro no meio ambiente.

Todavia, devido à expressão contínua das toxinas inseticidas ao longo do período de desenvolvimento, as plantas *Bt* exercem uma elevada pressão de seleção sobre as populações de insetos praga que são alvos do controle. Assim, a preservação da suscetibilidade nas populações de insetos a toxinas presentes nas culturas *Bt* está dependente da adoção de programas adequados de liberação e manejo destas plantas no ambiente. Estas medidas têm o objetivo de retardar ao máximo a evolução da resistência nos insetos a toxi-

nas de *B. thuringiensis*. Com a evolução da resistência, existe a possibilidade de perda desta tecnologia no MIP. Além disso, existe a chance de que ocorram restrições ao uso de biopesticidas formulados à base de *Bt* e o aumento no uso de inseticidas sintéticos no controle de pragas. Este acréscimo no uso de inseticidas representaria um retrocesso no desenvolvimento e emprego de práticas agrícolas compatíveis com a preservação do meio ambiente e dos recursos naturais. Deste modo, diante dos benefícios ao meio ambiente e das conseqüências associadas ao desenvolvimento da resistência, a normatização do processo de registro, liberação e manejo das plantas GM tem sido regulamentada por órgãos de proteção ambiental. Por exemplo, nos EUA a Agência de Proteção Ambiental (EPA) monitora de modo bastante programático a regulamentação e a situação dos plantios de plantas GM.

Até o momento não há nenhum relato de evolução de resistência de qualquer praga às toxinas de *Bt* no campo a partir da exposição a plantas GM resistentes a insetos. Em diferentes países, os resultados das estratégias de manejo da resistência podem ser conferidos nos dados de programas de monitoramento da

suscetibilidade de populações de insetos praga às proteínas inseticidas de *Bt*. Com base nestes estudos, pode-se dizer que no período de 1995-2003 não foi registrado aumento na freqüência de resistência às toxinas inseticidas provocada pela exposição às culturas *Bt* comercialmente utilizadas (Tabashnik et al. 2003; Bourguet 2004; Carrière et al. 2005).

Diante do exposto, pode-se concluir que a adoção da tecnologia de plantas GM em programas de MIP exige o estabelecimento de estratégias para o manejo

pró-ativo da resistência de insetos. O manejo da resistência de insetos pode ser definido como o conjunto de práticas que devem ser adotadas com o objetivo de reduzir o potencial para a evolução da resistência na população da praga. Neste sentido, programas de monitoramento da suscetibilidade das pragas-alvo são indispensáveis para que se acompanhe o desempenho das estratégias de manejo para o retardamento da evolução da resistência.

2. Potencial para Evolução da Resistência a Toxinas de *Bacillus thuringiensis* em Plantas GM

A bactéria *B. thuringiensis* é um microrganismo de solo, gram-positiva, que foi inicialmente isolada no Japão por Ishiwata e descrita por Berliner em 1915. Este patógeno apresenta a capacidade de formar cristais contendo endotoxinas, as quais são proteínas com ação inseticida, durante a fase de esporulação do seu ciclo de desenvolvimento. No entanto, sabe-se que proteínas inseticidas da fase vegetativa (VIP) também são produzidas antes da esporulação.

Os cristais de diferentes linhagens de *Bt* podem conter uma série

Tabela 1 - Sobrevivência de linhagens de insetos selecionadas em laboratório em plantas *Bt* comercialmente cultivadas (Modificado de Tabashnik et al., 2003)

Cultua <i>Bt</i>	Toxina de <i>Bt</i>	Inseto	Linhagem	RR ^a	Sobrevivência na cultura <i>Bt</i> (%) ^b	Referência
Milho	Cry1Ab ou Cry1Ac	<i>O. nubilalis</i>	KS-Sc	70	0	Huang et al., 2002
Algodão	Cry1Ac	<i>H. armigera</i>	Cry1Ac-sel	13	25	Fan et al., 2000
			BX	57	58	Akhurst et al., 2003
			<i>H. virescens</i>	YDHD2	10.000	0
		<i>P. gossipyella</i>	AZP-R	3.100	45	Morin et al., 2003
			APHIS-96-R	> 100	37	Liu et al., 1999
Batata	Cry3A	<i>L. decemlineata</i>	Bt-R	> 400	0	Wierenga et al., 1996

^a RR (Razão de Resistência) = CL₅₀ da linhagem resistente / CL₅₀ da linhagem suscetível

^b (Sobrevivência na cultura *Bt* / Sobrevivência numa variedade não *Bt* da mesma cultura) X 100. Para as linhagens YDHD2 a sobrevivência foi 0% no algodão *Bt* e no algodão não *Bt*.

de diferentes proteínas que possuem ação inseticida (ICP) as quais são tóxicas para diferentes grupos de insetos. Entre estas toxinas destacam-se as conhecidas proteínas Cry ou δ -endotoxinas. Entretanto, o histórico de uso de *B. thuringiensis* no controle de pragas não é recente, pois na França já no fim de 1930 foi comercializado o Sporeine, o qual era um produto formulado à base de *Bt*. Segundo EPA, existiam 182 produtos registrados à base de *Bt* em 1995. Todavia, devido à baixa estabilidade em condições de campo, baixa eficiência no controle de espécies de insetos consideradas crípticas e reduzido espectro de ação (Ferré & Van Rie 2002), até 1999 menos de 2% do total comercializado em inseticidas podia ser atribuído a vendas de produtos à base de *Bt*. Em 1987, pela primeira vez genes de *Bt* responsáveis pela produção de proteínas inseticidas foram introduzidos e expressos em plantas de fumo. Após alguns anos os cientistas obtiveram plantas que expressavam de modo efetivo os genes de *Bt*. Deste modo, em 1996 tornou-se possível a utilização comercial de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos as quais eram eficientes no controle de pragas. Entretanto, o potencial de evolução de resistência

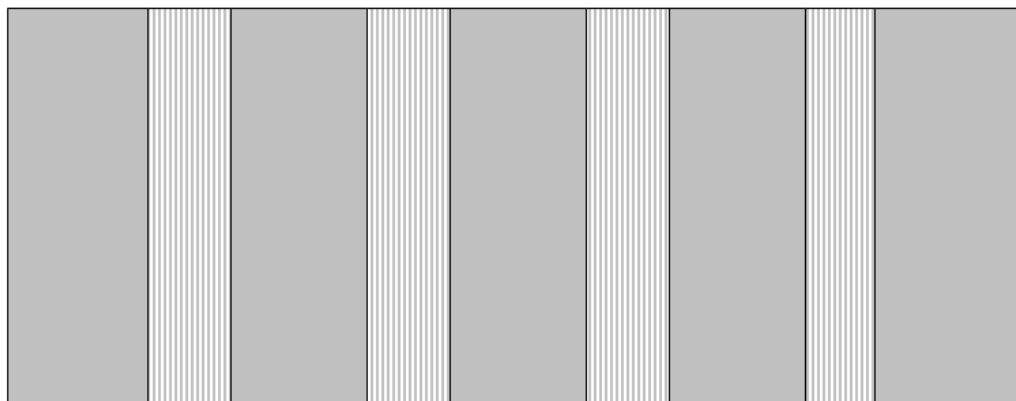
de populações de insetos às toxinas de *Bt* é uma das principais ameaças e limitações ao emprego sustentável de plantas geneticamente modificadas para o controle de pragas agrícolas.

Em condições de campo, têm-se relatos da resistência da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae), para biopesticidas formulados à base de *Bt*. Neste caso, foram detectados altos níveis de resistência à toxina Cry1Ab em populações de *P. xylostella* originárias das Filipinas, Havaí, Flórida e Ásia (Tabashnik 1990, 1994). Na população da praga coletada no Havaí foi também detectada resistência cruzada entre as toxinas Cry1Ab e Cry1F. Este foi o primeiro e até o momento ainda representa o único caso de resistência de insetos a biopesticidas formulados à base de *Bt* em condições de campo (Ferré & Van Rie 2002).

Por outro lado, há vários casos caracterizados de evolução da resistência de insetos a toxinas de *Bt* em condições de laboratório (Tabela 1). No entanto, a capacidade das linhagens resistentes em sobreviver à exposição a proteínas ou formulações de *Bt* em dieta artificial ou em bioensaios com folhas contaminadas não garante necessariamente a so-

brevivência das larvas sobre as plantas *Bt* (Tabela 1) Existem algumas hipóteses que podem nos auxiliar no entendimento destes resultados. Por exemplo, a maior exposição dos insetos às toxinas em testes nos quais se utiliza diretamente as plantas *Bt*, ou a presença de concentrações mais elevadas das toxinas nas plantas GM. Além disso, são também consideradas as possíveis interações de componentes químicos da planta e as toxinas de *Bt*, e a produção da forma ativa da toxina inseticida ao invés da protoxina. Vale lembrar que a protoxina é a forma não ativada das δ -endotoxinas, e que tem sido o agente de mortalidade muitas vezes testado nos bioensaios em condições de laboratório. Por último, há ainda a hipótese de que diferenças no conjunto de toxinas produzidas pelas plantas em comparação àquelas testadas no ambiente de laboratório poderiam ser responsáveis pela diminuição da sobrevivência das linhagens resistentes de insetos quando expostas às plantas *Bt*.

As toxinas Cry ou δ -endotoxinas possuem um mecanismo de ação que envolve uma série de etapas intimamente relacionadas com a ingestão dos cristais protéicos que são digeridos e solubilizados em faixas específicas de pH do intestino



Área com plantas Bt



Área com plantas não Bt



Figura 2. Disposição esquemática da área de refúgio na forma de faixas alternadas de plantas geneticamente modificadas e plantas convencionais. As dimensões das áreas a serem intercaladas deverão ser determinadas em função da bioecologia da praga alvo.

médio dos insetos e com a posterior liberação das protoxinas. As protoxinas são processadas por proteases do intestino médio dos insetos, originando um fragmento resistente a ação de proteases que, por sua vez, é considerado a toxina inseticida na sua forma ativada. A toxina atravessa então a membrana peritrófica e liga-se a receptores específicos localizados na membrana ciliada das células do intestino médio. A ligação que é seguida do encaixe parcial das toxinas na membrana leva à formação de poros, lise celular e eventualmente à morte do inseto por inanição ou septicemia. (Ferre & Van Rie 2002). Por exemplo, os insetos da ordem Lepidoptera são particularmente sensíveis a proteínas Cry1. A solubilização do cristal protéico libera a protoxina de peso molecular de 130-KDa, a qual é ativada por proteases no intestino médio, o que origina a forma truncada e ativa da proteína inseticida a qual tem por alvo a membrana ciliada das células do intestino médio (Bravo et al. 1992). A ligação da proteína inseticida nos receptores específicos do intestino médio provoca a alteração na conformação da toxina, o que permite a inserção de canais de íons ou poros na membrana ciliada que acarretam o desequilíbrio iônico no intestino médio do inseto (Gill et al. 1992). Entretanto, admite-se que com produção pelas plantas GM das toxi-

nas de *Bt* na sua forma ativa, existe uma limitação nas possibilidades de alterações nas etapas que compreendem o mecanismo de ação das proteínas de *Bt*. Isto porque nesta condição há uma sensível redução no número de pontos na rota de ação destas proteínas, os quais poderiam ser alterados conferindo resistência a insetos (Gould 1998).

Os estudos com relação a mecanismos de resistência a proteínas inseticidas de *Bt* têm sido bastante explorados pelo menos nos últimos 10 anos. Até o momento, foram identificados receptores da toxina Cry1 pertencentes a família das caderinas e aminopeptidases N (Darboux et al. 2002). O envolvimento de caderinas na resistência de proteínas Cry1Ab já foi observada em larvas de *Manduca sexta* (Vadilamudi et al. 1993; 1995) e *Ostrinia nubilalis* (Flannagan et al. 2005). Por sua vez, o envolvimento de caderinas e à toxina Cry1Ac já foi verificado em *Heliothis virescens* (Gahan et al. 2001) e *Pectinophora gossypiella* (Morin et al. 2003). Além disso, já foram identificados outros mecanismos de resistência de insetos a toxinas de *Bt*, como, por exemplo, alterações na atividade proteolítica de extratos do intestino médio que afetam o processo de ativação das protoxinas (Oppert 1999; Huang et al. 1999; Li et al. 2005) e inclusive a reposição de células danificadas do intestino mé-

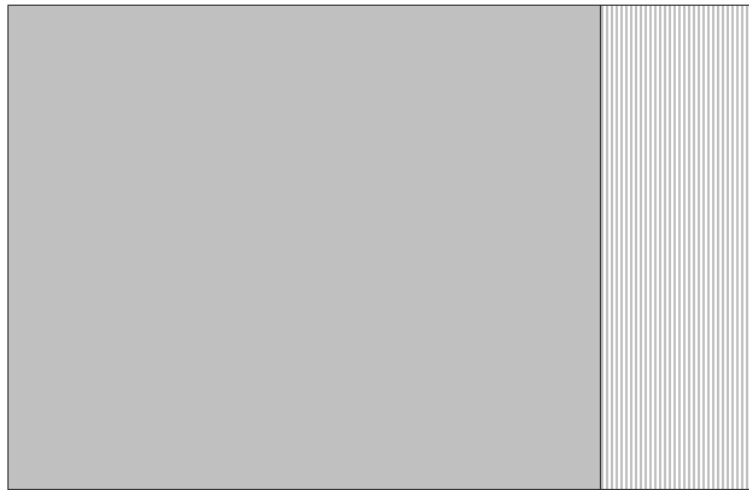
dio dos insetos pela ação de células tronco (Martinez-Ramirez & Real 1999). Recentemente, foi reportada a evidência de uma associação entre resistência a toxinas de *Bt* e o aumento da resposta do sistema imunológico de *Ephestia kuebniella* (Rahaman et al. 2004) e *Helicoverpa armigera* (Ma et al. 2005).

Todavia, a taxa de evolução da resistência é afetada por uma série de fatores genéti-

cos e bioecológicos da praga alvo de controle, além dos fatores operacionais vinculados às características intrínsecas das plantas GM, ao sistema de rotação ou sucessão de culturas e às estratégias de uso e liberação das dessas plantas GM. A seguir serão apresentados os principais pontos para a compreensão da evolução da resistência de insetos a plantas GM.

2.1. Herança da Resistência e Mortalidade de Heterozigotos

A resistência de insetos a inseticidas e a toxinas *Bt* caracteriza-se por ser pré-adaptativa. O conhecimento do padrão de herança da resistência permite a avaliação do potencial risco de evolução no campo. Por exemplo, situações em que a herança da resistência é recessiva, o resultado final é uma baixa sobrevivência dos indivíduos heterozigotos porque estes se comportariam fenotipicamente como homozigotos suscetíveis. Por outro lado, a dominância da resistência resultaria numa alta sobrevivência dos indivíduos heterozigotos no campo, os quais se comportariam fenotipicamente como homozigotos resistentes. Assim, a mortalidade dos heterozigotos é um dos pontos fundamentais no manejo da resistência, já que de acordo com o Equilíbrio de Hardy-Weinberg, os insetos de genótipo heterozigoto são, princi-





Área com plantas Bt 
 Área com plantas não Bt 

Figura 3. Disposição esquemática da área de refúgio na forma áreas adjacentes de plantas geneticamente modificadas e plantas convencionais. As dimensões das áreas adjacentes e distâncias máximas entre estas áreas também deverão ser determinadas em função da capacidade de dispersão da praga alvo.

palmente no início do processo de seleção, os principais carregadores dos alelos de resistência. Portanto, uma das estratégias para retardar a evolução da resistência tem sido a expressão da toxina em altas concentrações na planta GM para garantir uma elevada mortalidade de heterozigotos. A premissa básica para o sucesso desta estratégia é a recessividade do caráter resistência.

2.2. Aspectos Bioecológicos da Praga-Alvo

O conhecimento da bioecologia da praga alvo de controle da planta GM é fundamental para a elaboração e refinamento das estratégias de manejo da resistência de insetos a toxinas das plantas GM. Deste modo, a passo inicial é a correta definição de quais pragas serão o alvo do controle proporcionado por determinada planta GM resistente a insetos. Em seguida, deve ser levantada uma série de aspectos básicos da bioecologia do inseto por meio da revisão da literatura e de experimentos específicos. Estas pesquisas, quando conduzidas de modo correto, podem aumentar a confiabilidade nas estratégias de manejo e a capacidade efetiva de

que seja retardada a evolução da resistência. Os aspectos bioecológicos relevantes na composição das estratégias de manejo da resistência envolvem, por exemplo, o conhecimento da faixa efetiva de movimento das larvas da praga entre as plantas da cultura, assim como a capacidade de dispersão dos adultos. Não obstante, devem ser reunidas informações sobre o hábito alimentar e a efetividade com que hospedeiros alternativos são utilizados pela praga para a alimentação e ou para abrigo. Neste aspecto, é de grande importância a obtenção de dados da utilização não apenas dos hospedeiros cultivados, mas também, das plantas hospedeiras selvagens. De modo adicional, esforços devem ser direcionados para a compreensão do comportamento de cópula e oviposição dos insetos (Gould 1998). Por sua vez, também deve ser considerada a variedade de sistemas de produção em que a cultura GM será utilizada e as particularidades locais e regionais devem ser consideradas por afetarem diretamente aspectos como a dinâmica populacional da praga.

No estado do Arizona (EUA), a área de algodão transgênico entre

1997 e 1999 representou mais de 50% da área total plantada com algodão. Deste modo, a alta pressão de seleção exercida pelas plantas transgênicas e a ausência de hospedeiros alternativos aumentará consideravelmente a probabilidade de evolução de resistência em populações de lagarta rosada (*P. gossypiella*) à toxina Cry1Ac (Carrière et al. 2001).

No Brasil um bom exemplo destas relações que envolvem os insetos-praga e as plantas cultivadas é o plantio das culturas de algodão e milho em áreas adjacentes ou em sucessão de culturas. As culturas de algodão e milho apresentam insetos pragas em comum, destacando-se *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Certamente, haverá um impacto deste padrão de exploração da atividade agrícola sobre o delineamento das estratégias de manejo da resistência de *S. frugiperda* a toxinas presentes em plantas GM resistentes a insetos.

2.3. Dose e Número de Toxinas Inseticidas Expressas na Planta GM

A dose e o número de toxinas utilizadas no controle de insetos influem diretamente na mortalidade dos indivíduos heterozigotos e na probabilidade de que sejam selecionados indivíduos resistentes. Como mencionado anteriormente, a mortalidade de insetos heterozigotos é um dos pontos mais importantes que devem ser considerados na tentativa de se retardar a evolução da resistência. A utilização de altas doses para o manejo da resistência a inseticidas sempre foi limitada por problemas práticos. Por exemplo, o aumento da dose de um inseticida torna o controle químico ainda mais caro e impraticável comercialmente. Além disso, o uso de altas doses pode acarretar elevada mortalidade de agentes de controle biológico e insetos não-alvos de controle contrariando os fundamentos do MIP, além de colocar em risco a saúde de trabalhadores rurais e dos consumidores pela elevação do nível de resíduos químicos nos alimentos.

Entretanto, a expressão de

toxinas inseticidas de *Bt* nas plantas GM tornou possível a utilização de altas doses como parte integrante do manejo da resistência. Considera-se como alta dose, a expressão de toxinas inseticidas de *Bt* em doses 25x superiores para matar 99% de uma população da praga suscetível de referência (U.S. EPA/USDA 1999). Porém, ainda não existe consenso sobre os limites de mortalidade na população de insetos para que uma planta GM seja considerada como capaz de proporcionar o efeito de alta dose da toxina inseticida na praga alvo de controle.

Com relação ao binômio dose da toxina e mortalidade da praga alvo de controle, as diferenças existentes na eficiência do controle entre os diferentes eventos de milho e algodão *Bt*, a avaliação da atividade inseticida da planta *Bt* ao longo do seu desenvolvimento e a expressão de toxinas inseticidas nos diferentes tecidos vegetais, são pontos importantíssimos e que devem ser rigorosamente avaliados diante da elaboração de programas para o manejo da resistência de insetos a plantas GM.

Como exemplo, tem-se o complexo de pragas que ataca a cultura do algodão na Austrália. *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga importante em algumas culturas na Ásia atacando também a cultura do algodão na Austrália. No entanto, a toxina inseticida Cry1Ac, expressa no algodão *Bt* Ingard®, é cerca de 30 vezes menos tóxica para *H. armigera* do que para *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) que tem sido a praga alvo nos EUA. Resultados de pesquisa mostram que a atividade inseticida nas plantas do algodão *Bt* Ingard diminui com a maturação das plantas e alguns indivíduos de *H. armigera* são capazes de completar seu desenvolvimento nas fases mais tardias da cultura. Esta sobrevivência diferencial dos insetos deve ser entendida como parte de um processo de seleção e apresenta-se como um sério risco para a sustentabilidade desta tecnologia por facilitar o desenvolvimento da resistência na população da praga.

Nos EUA por sua vez são comercializados híbridos de milho *Bt*

apresentando a expressão da toxina Cry1Ab os quais são registrados para o controle de *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). Estudos mostram que estes eventos de milho *Bt* apresentam mais de 90% de controle das infestações iniciais de *O. nubilalis*. No entanto, existem diferença entre os eventos de milho *Bt* que expressam a toxina Cry1Ab em seus tecidos com relação no nível de controle das infestações de *O. nubilalis* que ocorrem próximas ao final do período de desenvolvimento das plantas de milho. Por exemplo, os híbridos de milho contendo o evento 176 expressam grandes quantidades da proteína inseticidas Cry1Ab nos tecidos verdes e nos grãos de pólen, porém baixos níveis nos tecidos reprodutivos (Koziel et al. 1993). Além disso, pesquisas mostraram que o evento 176 apresenta redução na expressão da toxina inseticida no tecido verde próximo a senescência das plantas (Fearing et al. 1997; Ostlie et al. 1997). Siegfried et al. (2001) verificaram a sobrevivência e danos causados pela segunda geração de *O. nubilalis* nas espigas de milho. Foi observado que as lagartas que sobreviveram quando presentes nas plantas *Bt* haviam sido expostas a doses subletais de Cry1Ab. Portanto, há alta probabilidade de ocorrência de aumento da pressão de seleção para a resistência. Isso porque nestas situações a concentração de toxina inseticida presente nas plantas era menor que a necessária para matar os indivíduos heterozigotos. Deste modo, o evento de milho *Bt* 176 foi retirado do mercado norte-americano por representar um risco considerável à rápida evolução da resistência à toxina Cry1Ab. Como discutido anteriormente, a mortalidade de heterozigotos é um dos pontos críticos no sucesso das estratégias de manejo da resistência a plantas GM. Admitindo-se uma planta de algodão ou milho *Bt* que não atenda às premissas da definição de alta dose, os insetos heterozigotos poderiam sobreviver na área *Bt* e aumentarem a frequência dos genes de resistência na população.

Apesar da estratégia de alta dose

e adoção de áreas de refúgio ser uma das mais utilizadas e com excelentes resultados principalmente nos EUA, o manejo da resistência pode também ser elaborado para plantas GM que expressão em seus tecidos as toxinas inseticidas em baixa dose. Entretanto, por não atingir a alta dose, estas plantas poderiam permitir a seleção e conseqüentemente a sobrevivência de indivíduos parcialmente resistentes (ex: insetos heterozigotos com apenas um alelo de resistência) e, portanto, levando ao aumento da frequência de resistência na população da praga. Assim, as plantas GM expressando toxinas de *Bt* em baixa dose podem representar um risco considerável para a sustentabilidade de culturas GM quando comparadas à expressão em alta dose, caso os agentes de controle natural da praga não atuem de modo sinérgico com as plantas GM.

3. Estratégias para o Manejo da Resistência a Toxinas em Plantas GM

Os programas de manejo da resistência apresentam os objetivos principais de evitar, retardar, ou mesmo, reverter a evolução da resistência. As estratégias para o manejo da resistência de insetos praga a plantas *Bt* podem ser divididas nas seguintes categorias:

* Uso de plantas com altas doses das toxinas *Bt* juntamente com plantio de áreas de refúgio

* Uso de plantas com mais de um gene de *Bt*

* Uso simultâneo de diferentes toxinas de *Bt* em diversos híbridos ou variedades comerciais de plantas GM

* Uso de plantas com baixo nível de expressão dos genes responsáveis pela produção das toxinas inseticidas

* Uso de plantas com expressão dos genes *Bt* direcionada para determinados tecidos ou estádios fenológicos

3.1. Alta Dose e Áreas de Refúgio

Esta estratégia baseia-se na utilização de plantas geneticamente

modificadas que expressam toxinas de *Bt* em altas doses nos seus tecidos e o plantio e manutenção de áreas de refúgio. A obtenção de plantas *Bt* com altas doses de toxinas nos tecidos apenas tornou-se uma alternativa no manejo da resistência no início da década de 90. Nesta época, foi demonstrado que a partir de alterações específicas na seqüência de DNA dos genes de *Bt* foi possível obter aumentos significativos na produção e acúmulo de toxinas inseticidas nos tecidos da planta GM. Desde modo, em teoria restariam nas áreas cultivadas com as plantas *Bt* apenas uma pequena quantidade de insetos heterozigotos, além dos indivíduos homozigotos resistentes que são bastante raros no início da evolução da resistência. Por esta razão, pode-se dizer que as plantas *Bt* com altas doses das proteínas inseticidas permitem que a resistência seja considerada funcionalmente recessiva (Figura 1). Nos EUA todos os híbridos de milho *Bt* disponíveis ao agricultor expressam as toxinas inseticidas em alta dose para o controle de *O. nubilalis*. Já no caso do algodão *Bt*, os cultivares disponíveis provavelmente produzem o efeito de alta dose para *H. virescens* e *P. gossypiella*, enquanto que nenhum dos eventos disponíveis atinge os requerimentos de alta dose no controle de *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae).

Por sua vez, as áreas de refúgio devem ser suficientemente atrativas para a oviposição da praga alvo do controle, e deste modo servirem como um reservatório de insetos suscetíveis. Para que a estratégia da alta dose e áreas de refúgios funcione, os insetos da área de refúgio devem migrar para a área cultivada com plantas *Bt*. Por consequência, se a frequência inicial do alelo de resistência for baixa tem-se que a maioria dos insetos será homozigoto suscetível. Logo, espera-se que os raros indivíduos homozigotos resistentes acabem na maioria das vezes por acasalar com indivíduos homozigotos suscetíveis advindos das áreas de refúgio. Portanto, a geração subsequente será composta novamente em sua maioria por indivíduos

os heterozigotos que serão suscetíveis devido à expressão das toxinas de *Bt* em alta dose. Para que a área de refúgio funcione de modo efetivo, admite-se que o número de insetos homozigotos suscetíveis deva ultrapassar a soma do número de heterozigotos e homozigotos resistentes em uma proporção maior ou igual a 500:1 (EPA 1998).

Entretanto, o sucesso da estratégia da alta dose associada a áreas de refúgio depende da satisfação de uma série de premissas envolvendo questões operacionais da plantas GM e bioecológicas da praga alvo do controle, tais como:

- * As plantas devem produzir as toxinas inseticidas em doses 25x o necessário para matar 99% dos insetos suscetíveis.

- * A frequência inicial dos genes de resistência deve ser baixa

- * O padrão de herança da resistência deve ser recessivo

- * O acasalamento deve ser aleatório entre os indivíduos homozigotos resistentes e suscetíveis.

- * O refúgio deve estar localizado de modo a assegurar o acasalamento aleatório entre os insetos presentes nas áreas com plantas GM e na área de refúgio.

- * Deve haver sincronia na emergência de insetos adultos entre as duas áreas. Possíveis diferenças no tempo de desenvolvimento podem comprometer o acasalamento aleatório entre os indivíduos resistentes e os suscetíveis.

A disposição das áreas de refúgio é um dos pontos de grande discussão para o manejo da resistência. As possibilidades envolvem a disposição do refúgio internamente à área *Bt* na forma de faixas de plantio (Figura 2), ou estruturado externamente às áreas de plantas *Bt* (Figura 3), ou ainda através da mistura de sementes GM e convencionais. Deve-se salientar que a disposição do refúgio está intimamente relacionada com a bioecologia da praga alvo de controle da planta *Bt*. Nas espécies de insetos nas quais as larvas não se dispersam entre as plan-

tas no campo, a utilização de mistura de sementes ou linhas de plantio de plantas GM e convencionais seria a forma ideal de disposição de refúgio. Neste caso, é possível se assegurar que a cultura GM possui uma área de refúgio com desenvolvimento fenológico e práticas adicionais aplicadas para controle de pragas seriam exatamente as mesmas nas plantas GM e nas convencionais. Este tipo de disposição para a área de refúgio vem sendo empregado na cultura do algodão *Bt* no Arizona, onde a lagarta rosada, *P. gossypiella*, é a praga alvo de controle. As larvas de *P. gossypiella* apresentam movimento limitado entre plantas de algodão e a dispersão de adultos também é restrita. Além disso, este inseto apresenta uma faixa limitada de plantas hospedeiras. Neste caso, com base em informações sobre a bioecologia de *P. gossypiella*, recomenda-se o plantio de 1 linha de algodão não *Bt* a cada 6 linhas da cultura *Bt*. No entanto, há casos nos quais as larvas se dispersam entre as plantas e acabam por alimentar-se nos diferentes hospedeiros presentes no campo. Nestas situações, a alta mobilidade das formas larvais reduziria a proporção de indivíduos que se desenvolveriam no refúgio. Isso porque indivíduos suscetíveis que se encontram nas plantas convencionais poderiam se dispersar para plantas *Bt* e serem controladas pelas toxinas inseticidas. Além disso, larvas de genótipo heterozigoto que seriam mortas enquanto neonatas poderiam sobreviver ao mover-se para plantas *Bt* em um estágio larval mais desenvolvido. Desta maneira, nas situações em que a praga alvo do controle apresenta nas larvas uma elevada taxa de dispersão entre plantas, tem-se recomendado a adoção de modo preferencial de um refúgio estruturado posicionado externamente à área *Bt*. As áreas destinadas a refúgio devem ser localizadas para otimizar o acasalamento aleatório entre os insetos suscetíveis da área de refúgio e os possíveis resistentes que sobrevivem na área *Bt*. Portanto, a localização da área de refúgio externa é definida em função de informações básicas sobre o movimento dos inse-

tos adultos juntamente com o comportamento reprodutivo e de oviposição da praga.

3.2. Plantas Expressando Duas ou Mais Toxinas de *Bt* - Pirâmides de Genes

A pirâmide de genes é uma das opções dos agricultores para o manejo da resistência de insetos a toxinas de *Bt* (Ferré & Van Rie 2002). Consiste no cultivo de uma planta geneticamente modificada contendo genes que codificam duas ou mais proteínas com ação inseticida. Este tipo de estratégia envolvendo a mistura de agentes de mortalidade pode ser classificado dentro do conjunto de medidas para manejo da resistência pertencentes à clássica estratégia de ataque múltiplo. Por sua vez, as proteínas inseticidas produzidas nestas plantas GM devem ser suficientemente distintas bioquimicamente e com baixo potencial para resistência cruzada. Um bom exemplo da expressão conjunta de duas proteínas inseticidas na mesma planta é o algodão *Bt* de marca registrada Bollgard® II comercializado nos EUA e na Austrália. Estas plantas expressam as toxinas Cry1Ac e Cry2Ab2 as quais possuem mecanismos de ação distintos (Crickmore et al. 1998). Além disso, plantas de algodão combinando as proteínas Cry2Ab2 e Cry1Ac foram capazes de controlar de modo eficiente insetos resistentes à toxina Cry1Ac (Tabashnik et al. 2002). Diversos estudos de simulação com uso modelos matemáticos têm demonstrado que a incorporação de duas toxinas na mesma planta é uma estratégia que permite uma maior durabilidade da tecnologia comparada à liberação sequencial de plantas GM contendo uma toxina, com possibilidades de redução do tamanho das áreas de refúgio (Roush 1998). No entanto, o uso de uma planta GM com duas ou mais proteínas inseticidas deve ser integrada a outras estratégias de manejo da resistência como a manutenção de áreas de refúgio para promover a sustentabilidade do uso das plantas GM.

3.3. Dispor Diferentes Toxinas

em Diferentes Variedades

A disposição de diferentes toxinas em híbridos de uma cultura por companhias concorrentes parece ser um dos prováveis cenários a partir da liberação para o plantio de plantas GM resistentes a insetos. Este padrão de uso levaria à formação de mosaicos mediante a adoção de diferentes plantas GM pelos agricultores. Entretanto, deve-se atentar para o fato de que numa formação de mosaicos, as diferentes áreas com plantas GM não funcionariam como refúgio em comum. Isto não é possível visto que dependendo no nível de expressão das toxinas, não haveria a produção suficiente de insetos suscetíveis em nenhuma destas áreas. Mesmo com plantio de áreas de refúgio, o sistema em mosaico apenas estaria simultaneamente selecionado para a resistência a cada uma das toxinas.

3.4. Uso Plantas com Baixa Dose das Toxinas Inseticidas

A utilização de doses moderadas das toxinas inseticidas é também uma possível estratégia para o manejo da resistência às plantas GM. Neste caso, espera-se a ação conjunta das plantas *Bt* e de inimigos naturais resulte em sucesso no controle de pragas. Entretanto, modelos genéticos mostram que o uso da baixa dose associada ao controle proporcionado por inimigos naturais pode diminuir, aumentar ou não afetar a taxa de incremento na frequência de resistência (Gould 1998). Pesquisas têm mostrado que o resultado desta associação depende dos detalhes envolvidos nas interações ecológicas entre a praga e os inimigos naturais (Johnson & Gould 1992; Johnson 1997; Johnson et al. 1997).

3.5. Expressão Direcionada das Toxinas Inseticidas

Esta estratégia baseia-se na expressão das toxinas inseticidas de modo não constitutivo. Assim, as possibilidades envolvem o uso de promotores que direcionem a expressão das toxinas em um determinado tecido ou estrutura vegetal, ou ainda regulem a produção das proteínas inseticidas em determinados

períodos do ciclo fenológico que são críticos para a proteção da planta. Entretanto, existe há necessidade de que estudos básicos de genética molecular sejam conduzidos para a detecção destas regiões promotoras.

4. O Monitoramento da Resistência às Toxinas de *Bt*

O monitoramento para a verificação de alterações na suscetibilidade dos insetos alvos de controle às toxinas de *Bt* é uma das partes mais importantes dos programas pró-ativos de manejo da resistência de insetos a plantas GM. Através deste tipo de monitoramento, tem sido possível não apenas se avaliar a resultado das estratégias de manejo implementadas em retardar a evolução da resistência e garantir a eficiência das plantas *Bt* no controle de pragas, mas também validar muitos dos parâmetros biológicos utilizados em modelos matemáticos. O passo inicial para os trabalhos de monitoramento é o estabelecimento da resposta natural de populações geograficamente distintas da praga às toxinas de *Bt* através do estabelecimento das linhas básicas de suscetibilidade antes da liberação das culturas GM no campo. Na seqüência deve ser realizado o acompanhamento sistemático da suscetibilidade dos insetos nestas regiões preferencialmente mediante o uso de concentrações diagnósticas ou discriminatórias. No contexto prático, o uso de bioensaios utilizando-se concentrações diagnósticas é o método corrente recomendado pela EPA no monitoramento da suscetibilidade de populações de insetos às toxinas de *Bt* nos EUA. Admite-se que estes bioensaios seriam eficientes para detectar a resistência quando a frequência dos alelos de resistência atingir 1%, o qual é um valor próximo do momento em que são observadas falhas no controle de pragas. (U.S. EPA/USDA 1999). A chance de se detectar larvas resistentes numa cultura *Bt* é função da pressão de seleção exercida sobre a praga, da frequência inicial dos indivíduos resistentes, e do número de amostras

coletadas. Por sua vez o monitoramento através do uso da técnica de “F₂ Screen” é particularmente interessante para a detecção de alelos recessivos raros na população de insetos. Através desta técnica é possível a detecção de alterações na suscetibilidade das populações de insetos a partir de um número menor de insetos coletados no campo. Admite-se que este método apresenta uma sensibilidade aproximadamente 10 vezes maior que a utilização de bioensaios com concentrações diagnósticas com uma geração obtida a partir da coleta de parentais no campo (Andow & Alstad 1998). Assim, o “F₂ Screen” é composto por quatro procedimentos: inicialmente fêmeas adultas e fecundadas devem ser coletadas no campo e no laboratório devem ser estabelecidas diferentes linhagens a partir de uma mesma fêmea trazida do campo. Em seguida, os indivíduos resultantes da geração F₁ devem ser criados e reproduzidos dentro de sua respectiva linhagem. As larvas neonatas da geração F₂ devem ser utilizadas em bioensaios para se verificar a suscetibilidade dos indivíduos a toxinas de *Bt*. Por fim, os dados de mortalidade dos insetos das diferentes linhagens devem ser analisados estatisticamente. O “F₂ Screen” é considerado um dos únicos procedimentos disponíveis que permite que sejam detectados alelos raros e recessivos em uma população de insetos.

As áreas nas quais serão realizadas as coletas para acompanhamento da suscetibilidade dos insetos não deverão ser apenas vinculadas aos níveis de adoção de culturas GM pelos agricultores. As definições destas áreas deverão considerar os diferentes regimes de seleção que os insetos estarão sendo expostos, também considerando, por exemplo, a diversidade de culturas e o sistema de produção. Deste modo, áreas com maior pressão de seleção sobre a população da praga deverão ser criteriosamente amostradas.

5. O Manejo da Resistência de Insetos a Plantas GM no Brasil

O Brasil recentemente regulamentou e normatizou os procedimentos para liberação experimental e comercial de plantas GM por intermédio da Lei de Biossegurança. Certamente, a primeira geração desses organismos será composta basicamente por plantas (milho e algodão) resistentes a insetos expressando toxinas inseticidas de *Bt*. O monitoramento da suscetibilidade pragas a toxinas de *Bt* no Brasil representa um enorme desafio na tentativa de conciliar as necessidades práticas e as exigências técnicas de um programa pró-ativo de manejo da resistência em um ambiente agrícola altamente diversificado.

Inicialmente, há necessidade de se coletar e organizar os dados, não apenas da eficiência agrônômica, mas que possibilitem a caracterização toxicológica desses eventos de plantas GM resistentes a insetos. Além disso, é necessária uma boa revisão dos aspectos bioecológicos das pragas chave alvos de controle e novas pesquisas que preencham as lacunas existentes. Sem dúvida, há necessidade de que sejam definidas quais informações são prioritárias, para que dessa forma não exista um atraso nos processos de liberação comercial das plantas GM.

É também de fundamental importância o conhecimento dos diferentes agroecossistemas no Brasil. Este será uma difícil tarefa para todos envolvidos no MIP. Isto porque nas condições brasileiras as diferentes culturas têm sido exploradas de modo intensivo e numa grande variedade dando origem a um considerável número de composições de mosaicos de plantas e sistemas de produção. E justamente este cenário que tem proporcionado periodicamente a inclusão de novas pragas nas diferentes culturas. Entretanto, as pragas chaves da cultura podem ser apontadas e selecionadas para os estudos de bioecologia destes insetos. Assim, há algumas espécies de insetos que certamente deverão ser alvos de estudos avançados envolvendo movimento de larvas, adultos, comportamento de cópula e oviposição, migração e fluxo gênico, plantas hospedeiras alternativas etc. Por

exemplo, *S. frugiperda* merece destaque devido à sua importância nas culturas de milho e algodão. Portanto, há necessidade de se considerar as estratégias de liberação de milho *Bt* na elaboração de plano de manejo de resistência em algodão *Bt*, e vice-versa. Sem dúvida, ainda são necessários avanços no estabelecimento de linhas básicas de suscetibilidade de pragas às diferentes toxinas de *Bt* no Brasil, bem com a validação de métodos de bioensaio para os programas de monitoramento da resistência.

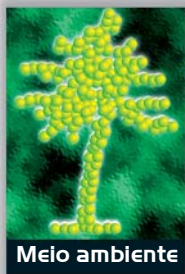
Devido ao grande potencial de uso da tecnologia de plantas *Bt* no Brasil, há necessidade de elaboração de programas pró-ativos para o manejo da resistência às toxinas de *Bt*. Neste ponto, as Universidades, Instituições de Pesquisa, Empresas Estaduais e Privadas e Órgãos de Regulação devem atuar conjuntamente para que todas as informações necessárias sejam geradas do modo mais idôneo e responsável, afim de que seja depositada a confiança da sociedade como um todo nas estratégias de manejo da resistência. O acompanhamento da eficiência das estratégias de manejo por Laboratórios, Agências ou Órgãos Públicos credenciados é uma das alternativas que podem ser consideradas num plano nacional que regulamentaria a adoção de culturas *Bt*. As áreas de refúgio têm sido fundamentais para o retardamento da evolução da resistência. Sendo assim, este é um dos pontos que merece atenção para os programas de educação e conscientização da sociedade sobre a necessidade da manutenção de áreas de refúgio. Ainda, há necessidade de se pensar em planos de mitigação, caso sejam detectados aumentos nos níveis de resistência em determinadas populações de insetos.

6. Literatura citada

- Andow, D. A.; Alstad, D. N. 1998. The F₂ Screen for rare resistance alleles. *Journal of Economic Entomology*, 91: 572-578.
- Bourguet, D. 2004. Resistance to

- Bacillus thuringiensis* toxins in the European corn borer: what chance for *Bt* maize? *Physiological Entomology*, 29:251-256.
- Bravo, A.; Hendrickx, K.; Jansens, S.; Perfeoen, M. 1992. Immunocytochemical analysis of specific binding of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins to lepidopteran and coleopteran midgut membranes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 60: 247-263.
- Carrière, Y.; Tabashnik, B. E. 2001. Reversing insect adaptation to transgenic insecticidal plants. *Proceedings of Royal Society of London, Biological Science*, 268: 1475-1480.
- Carrière, Y.; Ellis-Kirk, C.; Kumar, K.; Heuberger, S.; Whitlow, M.; Whitow, M.; Antilla, L.; Dennehy, T. J.; Tabashnik, B. E. 2005. Long-term evaluation of compliance with refuge requirements for Bt cotton. *Pesticide Management Science*, 61: 1519-1523.
- Ceci, L. R.; Volpicella, M.; Rahbe, Y.; Gallerani, R.; Beekwilder, J.; Jongsman, M. A. 2003. Selection by phage display of a variant mustard trypsin inhibitor toxic against aphids. *Plant Journal*, 33: 557-566.
- Crickmore, N.; Zeigler, Z. R.; Feilelson, J.; Schnepf, E.; Van Rie, J.; Lereclus, D.; Baum, J.; Dean, D. H. 1998. Revision of the nomenclature for *Bacillus thuringiensis* encoded by a cryptic gene. *Microbiological Molecular Biology Review*, 62: 807-813.
- Christeller, J. T.; Burgess, E. P. J.; Mett, V.; Gatehouse, H. S.; Markwick, N. P.; Murray, C.; Malone, L. A.; Wright, M. A.; Philip, B. A.; Watt, D. 2002. The expression of a mammalian proteinase inhibitor, bovine spleen trypsin inhibitor in tobacco and its effects on *Helicoverpa armigera* larvae. *Transgenic Research*, 11: 161-173.
- Darboux, I.; Pauchet, Y.; Catella, C.; Silva-Filha, M.H.; Nielsen-leftoux, C.; Charles, J.F.; Pauron, D. 2002. Loss of the membrane anchor of the target receptor is a mechanism of biopesticide resistance. *Proceedings of National Academy of Science (USA)*, 99: 5830-5835.
- EPA, U. S. 1998. FIFRA Scientific Advisory Panel, Sub panel on *Bacillus thuringiensis* (Bt) Plant- Pesticides & Resistance Management.
- Fearing, P. L.; Brown, D.; Vlachos, D.; Meghji, M.; Privalle, L. 1997. Quantitative Analysis of Cry1Ab Expression in Bt Maize Plants, Tissues and Silage, and Stability of Expression over the Generations. *Molecular Breeding*, 3: 169-176.
- Ferré, J.; Van Rie, J. 2002. Biochemistry and Genetics of Insect Resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*, 47: 501-543.
- Ferry, N.; Edwards, M. G.; Gatehouse, J. A.; Gatehouse, A. M. R. 2004. Plant-insect interactions: molecular approaches to insect resistance. *Current Opinion on Biotechnology*, 15: 1-7.
- Flannagan, R.D.; Yu. C.; Mathis, J.P.; Meyer, T.E.; Shi, X.; Siqueira, H.; Siegfried, B.D. 2005. Identification, cloning and expression of a Cry1Ab cadherin receptor from European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35: 33-40.
- Gahan, L.J.; Gould, F.; Hechel, D.G. 2001. Identifications of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*. *Science*, 293: 857-860.
- Gatehouse, J. A. 2002. Plant Resistance Towards Insect Herbivores: A Dynamic Interaction. *New Phytology*, 156: 145-169.
- Gill, S.S.; Cowles, E.A.; Pietrantonio, P.V. 1992. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Annual Review of Entomology*, 37: 615-636.
- Gould, F. 1998. Sustainability of Transgenic Insecticidal Cultivars: Integrating Pest Genetics and Ecology. *Annual Review of Entomology*, 43: 701-726.
- Hossain, F.; Pray, C.E.; Lu, Y.; Huang, J.; Fan, C.; Hu, R. 2004. Genetically modified cotton and farmer's health in China. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 10: 293-303.
- Huang, F.; Zhu, K.Y.; Bushman, L.L.; Higgins, R.A.; Oppert, B. 1999. Comparison of midgut proteinases in *Bacillus thuringiensis* susceptible and resistant European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 65:132-169.
- Johnson, M. T.; Gould, F. 1992. Interaction of Genetically Engineered host plant resistance and natural enemies of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in tobacco. *Environmental Entomology*, 21:207-214.
- Johnson, M. T. 1997. Interaction of resistant plants and wasp parasitoids of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 26: 207-214.
- Johnson, M. T.; Gould, F.; Kennedy, G. G. 1997. Effect of natural enemies on fitness of *Heliothis virescens* on resistant host plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 82: 219-230.
- Koziel, M. G.; Beland, G. L. Bowman, C.; Carozzi, N. B.; Crenshaw, R.; Crossland, L.; Dawson, J.; Desai, N.; Hill, M.; Kadwell, S. 1993. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an protein gene derived from *Bacillus thuringiensis*. *Bio/Technology*, 11: 194-200.
- Li, H.; Oppert, B.; Higgins, R.A.; Huang, F.; Bushman, L.L.; Gao, J-R.; Zhu, K.Y. 2005. Characterization of

- cDNA encoding three trypsin-like proteinases and mRNA quantitative analysis in Bt-resistant and -susceptible strain of *Ostrinia nubilalis*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35: 847-860.
- Loc, N. T.; Tinjuangjun, P.; Gatehouse, A. M. R.; Christou, P.; Gatehouse, J. A. 2002. Linear transgene constructs lacking vector backbone sequences generate transgenic rice plants with accumulate higher levels of proteins conferring insect resistance. *Molecular Breeding*, 9: 231-244.
- Ma, G.; Roberts, H.; Sarjan, M.; Featherstone, N.; Lahnstein, J.; Akhurst, R.; Schmidt, O. Is the mature endotoxins Cry1Ac from *Bacillus thuringiensis* inactivated by coagulation reaction in the gut lumen of resistant *Helicoverpa armigera* larvae? *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35: 729-739.
- Martinez-Ramirez, A.C.; Real, A.D. 1996. Photolytic processing of CryIII toxin and specific binding to brush-border membrane vesicles of *Lepidoptarsa decemlineata* (Colorado potato beetle). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 54:115-122.
- Morin, S. R.; Biggs, W.; Sisterson, M. S.; Shriver, L.; Ellerskirk, C.; Higginson, D.; Holley, D.; Gahan, J. J.; Heckel, D. G.; Carrière, Y.; Dennehy, T. J.; Brown, J. K.; Tabashnik, B. E. 2003. Three cadherin alleles associated with resistance to *Bacillus thuringiensis* in pink bollworm. *Proceedings of National Academy of Science of USA*, 100: 5004-5009.
- Oppert, B. 1999. Protease interaction with *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 42: 1-12.
- Ostlie, K. R.; Hutchinson, W. D.; Hellmich, R. L. 1997. Bt Corn and European Corn Borer. NCR Publication 602, University of Minnesota, St. Paul, MN.
- Pray, C.; Huang, J.; Hu, R.; Rozelle. 2002. Five Years of Bt Cotton in China - the Benefits Continue. *Plant Journal*, 31: 423-430.
- Rahman, M.M.; Roberts, H.L.S.; Sarjan, M.; Asgari, S.; Schmidt, O. 2004. Induction and transmission of *Bacillus thuringiensis* tolerance in flour moth *Ephesia kuebniella*. *Proceedings of National Academy of Science of USA*, 10: 2696-2699.
- Roush, R.T. 1998. Two-toxin strategies for management of insecticidal transgenic crops: can pyramiding succeed where pesticide mixtures have not? *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 353: 1777-1786.
- Siegfried, B. D.; Zoerb, A. C.; Spencer, T. 2001. Development of European corn borer larvae on the Event 176 Bt corn: Influence on survival and fitness. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 100: 15-20.
- Tabashnik, B. 1994. Evolution to Resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*, 39: 47-79.
- Tabashnik, B. E.; Liu, Y.; Malvar, T.; Heckel, D. G.; Masson, L.; Ballester, V.; Granero, F.; Mensua, J. L.; Ferré, J. 1997. Global Variation in the Genetic and Biochemical Basis of Diamondback Moth resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Proceedings of National Academy of Science of USA*, 94: 12780-12785.
- Tabashnik, B.; Cushing, N. L.; Finson, N.; Johnson, M. W. 1990. Field Development of Resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamond back moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, 83: 1671-1676.
- Tabashnik, B. E.; Dennehy, T. J.; Sims, M. A.; Larkin, K.; Head, G. P.; Moar, W. J.; Carrière, Y. 2002. Control of resistant pink bollworm by transgenic cotton with *Bacillus thuringiensis* toxin Cry2Ab. *Applied Environmental Microbiology*, 68: 3790-3794.
- Tabashnik, B. E.; Carrière, Y.; Dennehy, T. J.; Morin, Shai; Sisterson, M. S.; Roush, R. T.; Shelton, A. M.; Zhao, J. 2003. Insect Resistance to Transgenic Bt Crops: Lessons from the Laboratory and Field. *Journal of Economic Entomology*, 96(4): 1031-1038.
- Thirtle, C.; Beyers, L.; Ismael, T.; Piesse, J. 2003. Can GM-technologies help the poor? The impact of Bt cotton in Makhathini Flats, KwaZulu-Natal. *World Development*, 31: 717-732.
- Toenniessen, G. H., J. C. O'Tolle, J. Devries, J. 2003. Advances in plant biotechnology and its adoption in developing countries. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 191-198.
- U.S. Environmental Protection Agency and US Department of Agriculture. 1999. Report of EPA/USDA Workshop on Bt Crop Resistance Management in Cotton. Memphis, Tennessee. August 26, 1999. Esther Day, ed. 80p. American Farmland Trust, Center of Agriculture in the Environment (posted at: <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides>).
- Vadilamudi, R.K.; Ji, T.H.; Bulla, L.A. 1993. A specific binding protein from *Manduca sexta* for an insecticidal toxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. Berl. *Journal of Biological Chemistry*, 268:12334-12340.
- Vadilamudi, R.K.; Weber, E.; Ji, T.H.; Bulla, L.A. 1995. Cloning and expression of a receptor for an insecticidal toxin of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Biological Chemistry*, 270: 5090-5494.
- Wu, K.; Mu, W.; Liang, G.; Guo, Y. 2005. Regional reversion of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) is associated with the use of Bt cotton in northern China. *Pest Management Science*, 61:491-498.



Meio ambiente

Bacillus Thuringiensis

Formulações e Plantas Transgênicas

Deise Maria Fontana Capalbo

Dra em Engenharia de Alimentos, pesquisadora,
Embrapa Meio Ambiente
deise@cnpma.embrapa.br

Gislayne Trindade Vilas-Bôas

Dra em Microbiologia, Universidade Estadual de
Londrina
gvboas@uel.br

Olívia M. Nagy Arantes

Dra em Agronomia, Professor Adjunto
Universidade Estadual de Londrina
oarantes@uel.br

Marise T. Suzuki

Mestre em Biotecnologia, Doutoranda de
Biotecnologia pela USP/SP
Bolsista Capes, Embrapa Meio Ambiente
marisets@cnpma.embrapa.br

O controle de insetos-praga de lavouras nocivos ao homem tem sido feito com inseticidas químicos desde o início da década de 40, no século passado. Além do problema de poluição ambiental gerados, eles se mostraram tóxicos e sem especificidade, atingindo também os insetos benéficos e induzindo casos de resistência nos insetos praga. Outros compostos químicos foram posteriormente elaborados, mas o seu emprego intensivo, tanto na agricultura quanto na saúde pública, resultou em novos casos de resistência e mesmo em resistência cruzada. Além do problema da resistência, com conseqüente redução da efetividade do controle, o uso de inseticidas químicos também levou à redução da biodiversidade nas áreas tratadas, à contaminação de alimentos, do solo e da água.

A agricultura sustentável do século XXI exige, cada vez mais, intervenções alternativas para o controle e manejo de insetos que sejam ambientalmente seguras e que reduzam o contato humano com os pesticidas químicos sintéticos. Como opção podem ser utilizados microrganismos entomopatogênicos, incluindo bactérias, vírus, fungos e protozoários, com vantagens numerosas, como por exemplo: a segurança para seres humanos e outros organismos-não-alvo, a redução de resíduos de pesticidas nos alimentos, o aumento da atividade de outros ini-

migos naturais e a recuperação da biodiversidade nos ecossistemas tratados.

Nos anos que se seguiram à sua descoberta, no início do século XX, *Bacillus thuringiensis* (Bt) recebeu pouca atenção dos microbiologistas e entomologistas. Entretanto, após a descoberta de sua atividade entomopatogênica, ele passou a ser estudado por enorme quantidade de cientistas das mais diversas disciplinas, que exploraram seus segredos em nível molecular, fisiológico e ecológico. Hoje, Bt é o inseticida microbiano mais bem-sucedido, aplicado na proteção de grãos, florestas e no combate a vetores de doenças aos humanos.

A atividade entomopatogênica desta bactéria é decorrente da produção de cristais protéicos em concomitância com o processo de esporulação (figura 1). Esses cristais são formados por polipeptídios conhecidos como proteínas Cry que apresentam propriedades entomopatogênicas frente a insetos das ordens Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Dictyoptera, Orthoptera, Mallophaga, além de nematóides (Strongylida, Tylenchida), protozoários (Diplomonadida) e ácaros (Acari).

O avanço das pesquisas com esta bactéria incentivou a busca de novos isolados com atividade tóxica até então desconhecida àqueles insetos, bem como a obtenção, por engenharia genética, de linhagens com atividade bioinseticida frente a

Quadro 1. Pesquisa desenvolvida com *Bacillus thuringiensis* no setor privado nos anos 1980

Período	Empresa	Cepas não modificadas	Cepas melhoradas	Plantas recombinantes	Aplicação mediada por microrganismos
Antes de 1980	Abbot Laboratories	+			
	Biochem	+			
	Zoecon	+			
	Duphar	+			
Após 1980	Abbot	+	+		
	Solvay/Duphar	+	+		
	Zoecon/Sandoz	+	+	+	
	Novo	+	+		
	Ciba-Geigy	+	+		
	ICI	+	+	+	
	Sumitomo	+	+		
	Dow Elanco	+	+		
	Ecogen	+	+		
	Mycogen	+	+		+
	Monsanto			+	+
	Rohm and Haas			+	
	Plant Genetic Systems			+	
	Agracetus			+	
	Calgene			+	
	Sungene Techn. Inc.			+	
Agrigenetics				+	
Crop Genetics Intern.				+	

Fonte: Adaptado de Frankenhuizen (1993)

um espectro maior de insetos alvo. Esses avanços coincidiram com uma mudança decisiva no modo como a sociedade, e em especial os órgãos regulamentadores, perceberam as conseqüências ambientais do uso intensivo de pesticidas químicos, em especial o desenvolvimento de resistência dos insetos aos princípios ativos. Esses fatos estimularam inúmeras empresas voltadas à produção de agrotóxicos e à biotecnologia, a iniciarem ou fortalecerem suas linhas de pesquisa e desenvolvimento com Bt (Quadro 1), bem como a lançarem no mercado inúmeros produtos registrados à base desta bactéria.

O desenvolvimento de novos produtos para o controle biológico foi possível, especialmente, devido à atividade entomopatogênica desta bactéria estar relacionada à formação da proteína Cry, codificada por um único gene *cry*, o que facilita a manipulação de diferentes genes *cry* em processos biotecnológicos. Assim, no final do século XX houve uma diversificação das estratégias de sua utilização no controle biológico: maior produção de toxinas; aumento do espectro de ação por novas variedades de *B. thuringiensis*; introdução de genes *cry* em diferentes microrganismos e plantas transgênicas.

Foi assim contornado o limitado espectro de controle e obtidas formas mais eficazes e direcionadas de aplicação, dando espaço para novos avanços na área de genética de Bt, explorando-se ainda mais as bases de sua toxicidade seletiva e especificidade.

Genes *cry* e proteínas Cry

A patogenicidade e a especificidade de uma linhagem de Bt são determinadas pelos tipos de genes *cry* funcionais que a mesma apresenta. Uma linhagem de *B. thuringiensis* pode conter uma ou várias cópias de um mesmo gene *cry* ou de diferentes genes cujos produtos formarão o mesmo cristal. A loca-

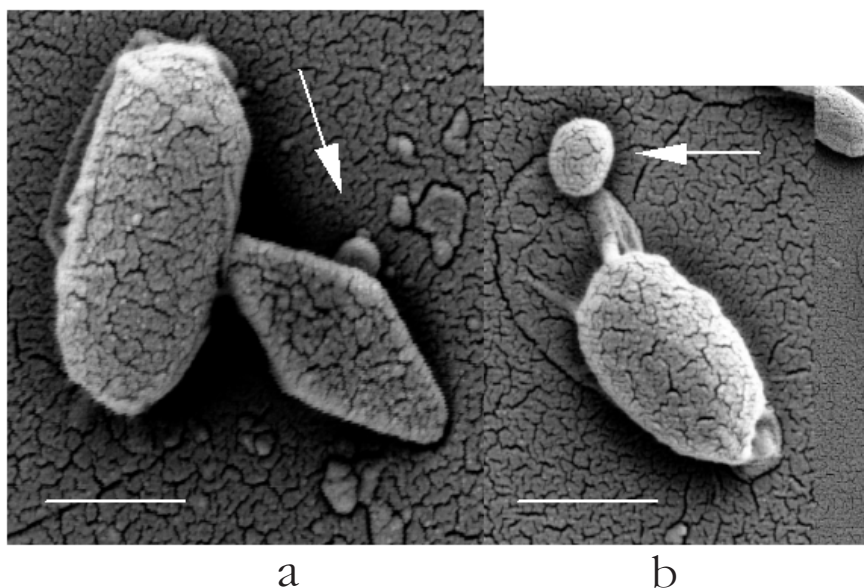


Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura de esporos e cristais (setas) de *Bacillus thuringiensis*. a) cristais com formato bipiramidal e b) cristais com formato esférico. Barras: 1 µm.

Fotografias de Marise T. Suzuki (CNPMA/EMBRAPA).

lização preferencial em plasmídios conjugativos, bem como a freqüente associação a elementos genéticos móveis, determina a grande diversidade destes genes e a conseqüente ocorrência de linhagens contendo diferentes combinações deles, o que resulta em perfis de toxicidade distintos.

Todos os avanços no conhecimento dos genes *cry* permitiram ainda a construção de sondas específicas para a seleção de linhagens por meio de análise de hibridação, em razão da presença de seqüências de nucleotídios conhecidas. Em 1998, Crickmore e colaboradores propuseram uma classificação das proteínas Cry, baseada somente na seqüência de aminoácidos, não levando em consideração o perfil de toxicidade. Atualmente são descritos mais de 250 genes diferentes, enumerados por algarismos arábicos contendo 44 classes com subdivisões (*cry1* a *cry44*). As atualizações são freqüentes e podem ser acompanhadas pelo site: http://epunix.biols.susx.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/index.

Modo de ação e estrutura das proteínas Cry

Na forma como são sintetizadas, as proteínas Cry apresentam-se como protoxinas sem ação entomopatogênica, necessitando ser ativadas para o desencadeamento de seus efeitos tóxicos. Sua ação ocorre por via oral, seguindo-se uma série de passos. Ao serem ingeridas por um inseto suscetível, as protoxinas são solubilizadas no ambiente alcalino do intestino dele (pH ~ 10) e, em seguida, processadas por proteases específicas. Os produtos ativos das proteínas Cry resultantes de todos esses processos ligam-se de maneira irreversível a receptores de membrana das células epiteliais do intestino do inseto, levando à formação de poros inespecíficos ou canais iônicos, que alteram a permeabilidade das células. Essa alteração leva a uma lise celular e à ruptura da integridade intestinal, com conseqüente morte da larva.

As proteínas Cry apresentam massas moleculares que variam de 40 a 140 kDa, possuindo duas regiões distintas: uma porção amino-terminal, normalmente variável e associada à toxicidade, e uma porção carboxi-terminal, mais conservada entre as proteínas, associada geralmente à formação do cristal. Nos insetos pertencentes à ordem Lepidoptera, a intoxicação manifesta-se por paralisação imediata do tubo digestivo e das peças bucais, levando à lise celular e interrupção da alimentação. Esses sintomas são seguidos por ruptura na integridade do intestino, inanição e posterior septicemia, levando o inseto à morte.

Ecologia de *B. thuringiensis*

Em todo o mundo, muitos programas de isolamento de *B. thuringiensis* têm encontrado este microrganismo distribuído em ampla gama de ambientes. Linhagens têm sido isoladas principalmente a partir de amostras de solo, de insetos vivos ou mortos e de grãos estocados, bem como de fontes alternativas, como o filoplano de espécies vegetais e amostras de águas de rios e lagos. No entanto, a sua distribuição e suas relações ecológicas permanecem ainda em discussão. Sabe-se que seus esporos podem persistir no solo por diversos anos, contudo, segundo estudos recentes, *B. thuringiensis* não tem a capacidade de se multiplicar nem no solo nem na água. Diversos dados evidenciam que o inseto é o único ambiente onde ocorre multiplicação e efetiva troca de material genético entre linhagens de *B. thuringiensis* (Suzuki et al. 2004; Vilas-Bôas et al., 1998). Isso explica o fato de nunca ter sido descrita epizootia no caso de *B. thuringiensis* e corrobora a segurança dos produtos à base desta bactéria.

Produtos formulados à base de *B. thuringiensis*

Formulações comerciais basea-

das em *B. thuringiensis* são compostas por uma mistura de células, esporos e cristais, que são formados por proteínas Cry. Estas proteínas são consideradas ambientalmente seguras por apresentarem um modo de ação extremamente específico e serem rapidamente biodegradadas em ambientes naturais como o solo. Os mecanismos envolvidos no modo de ação de Bt garantem de certa forma sua segurança especialmente ao homem e insetos benéficos. Em adição, extensivos estudos em laboratório são requeridos para a liberação de novos produtos pela Agência Americana de Proteção Ambiental (EPA-EUA) e outras autoridades regulatórias de vários países, incluindo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) no Brasil. O Quadro 2 mostra a disponibilidade de produtos à base de Bt, no Brasil, até dezembro de 2003, registrados nos órgãos federais competentes.

A escolha de um produto para a implantação de programas de controle de insetos deve levar em conta, entre outras características, a eficácia e a persistência da atividade bioinseticida. No entanto, alguns produtos têm demonstrado baixa persistência e/ou atividade no campo, o que leva a aplicações recorrentes, dependendo do produto e do inseto-alvo. Outros produtos não atingem determinadas regiões da planta, como raízes, colmo e botão floral, que são pontos estratégicos para o controle de várias pragas suscetíveis a *B. thuringiensis*. Assim, houve a necessidade do desenvolvimento de produtos biotecnológicos à base de proteínas Cry, visando preencher as lacunas apresentadas pelos programas de controle de insetos baseados em Bt.

Diferentes produtos biotecnológicos foram lançados no mercado, como o bioinseticida Raven[®] da Ecogen, produzido a partir de uma linhagem de *B. thuringiensis* onde foram inseridos genes *cry*, responsá-

Quadro 2. Biopesticidas à base de *Bacillus thuringiensis* registrados no Brasil até 2003

Órgão de Registro	Empresa produtora	Nome comercial	Ingrediente ativo	Organismo alvo	¹ Classe toxicológica	² Ano de registro
MAPA ³	Sumitomo (anteriormente Abbott Lab.)	Dipel	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , HD-1	Lepidópteros	IV ^{4,5}	1991
IBAMA ⁴	Sumitomo	Dipel F	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , HD-1	<i>Thyrinteina arnobia</i>	IV ^{4,5}	1991
MAPA	Sumitomo	Dipel Técnico	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , HD-1	Lepidópteros	IV ^{4,5}	1981
MAPA	Sumitomo	Dipel PM ⁶	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , HD-1	Lepidópteros	IV ^{4,5}	1989
MAPA	Agri-control	Bac-control PM	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , 3a, 3b	Lepidópteros	IV ^{4,5}	1987
MAPA	Novartis S.A. (antiga Ciba-Geigy)	Agree	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> , GC 91	Lepidópteros	III5IV ⁴	1995
IBAMA	Novartis S.A.	AgreE	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> , GC 91	<i>T. arnobia</i>	III5IV ⁴	1995
MAPA	Milenia (antiga Geratec)	Bactur PM	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , H-3a, 3b	<i>A. gemmatilis</i>	III5IV ⁴	1996
MAPA	Iharabras Novartis S.A. (antiga Sandoz)	Thuricide	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , HD-1	Lepidópteros	IV ^{4,5}	1991
IBAMA	Iharabras / Novartis S.A.	Thuricide PM	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Lepidópteros	IV ^{4,5}	1995
ANVISA	Novartis S.A.	Teknar	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	<i>Culex</i> , <i>Aedes</i> , <i>Anopheles</i> , Simulídeos	IV	1989
ANVISA	Sumitomo	Spherico	<i>B. sphaericus</i>	<i>Aedes aegypti</i> Culicídeos	IV	1995
MAPA	Agrevo Bayer Crop Science	Ecotech Pro	<i>B. thuringiensis</i>		III5IV ⁴	1998
MAPA	Sumitomo	Xentari	<i>B. thuringiensis</i>		II5IV ⁴	1998
ANVISA	Sumitomo	Vectolex - G	<i>B. sphaericus</i>	Domissanitário	Domissanitário ⁷	1999

¹Classe toxicológica: III = medianamente tóxico, IV = pouco tóxico

²Ano em que o registro foi autorizado

³Ministério da Agricultura, da Pecuária e do Abastecimento

⁴Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – Ministério do Meio Ambiente

⁵Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ANVISA – Ministério da Saúde

⁶PM = pó molhável (tipo de formulação)

⁷Uso em campanhas de saúde pública e por instituições especializadas

veis pela formação de proteínas Cry ativas contra coleópteros e lepidópteros. Outra estratégia envolvendo os genes *cry* é a possibilidade de expressão em organismos recombinantes heterólogos. Essa tecnologia permitiu que a capacidade de produção da toxina Cry fosse transferida para outros organismos, agregando vantagens aos produtos, como o controle de pragas inacessíveis aos produtos convencionais e

maior estabilidade das proteínas Cry no ambiente. Com essa finalidade, foram utilizados organismos colonizadores de plantas, como *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum*, *Bacillus pumilus* e *Rhizobium leguminosarum*, além de fungos ectomicorrízicos, como *Laccaria bicolor*. Da mesma forma, a introdução de genes *cry* em bactérias endofíticas que colonizam o sistema

vascular das plantas permitiu o controle dos insetos que vivem no interior do caule e das raízes (Arantes et al., 2002).

Além das linhagens de *B. thuringiensis* melhoradas geneticamente e da construção de microrganismos recombinantes heterólogos, outro produto biotecnológico surgiu no final do século XX, gerado pela inserção de genes *cry* em plantas, formando as chamadas plantas Bt, as

quais produzem suas próprias proteínas Cry, ficando protegidas do ataque de insetos susceptíveis. A produção destas plantas ocorre em laboratório com o emprego de métodos de engenharia genética (Capalbo et al. 2004).

Métodos moleculares para se obter plantas Bt

O desenvolvimento das plantas transgênicas só foi possível devido a universalidade da molécula de DNA, presente nas células de todos os organismos vivos. Essa molécula estoca a informação genética e orquestra os processos metabólicos da vida. Mesmo espécies completamente diferentes têm mecanismos equivalentes para converter a informação genética contida no DNA em proteínas, o que significa que um segmento de DNA proveniente de uma bactéria pode ser bem interpretado e traduzido em uma proteína funcional quando inserido numa planta.

O fragmento de DNA a ser inserido no genoma da célula vegetal normalmente acrescenta um fenótipo ou causa alterações no fenótipo original, como a produção de nova(s) proteína(s). O primeiro passo para que isso seja feito, é a preparação do DNA exógeno, que deve conter, no mínimo, um promotor (para ativar o gene), o gene de interesse (um gene *cry* no caso das plantas Bt), uma seqüência de término (uma seqüência de DNA que sinaliza o final da transcrição do gene) e um gene codificante para uma marca que permita a seleção das células que foram transformadas.

Para a obtenção de plantas transgênicas, o DNA exógeno deve ser inserido no genoma da célula vegetal, permanecendo estável. Se a inserção do DNA é direcionada a um loco pré-determinado, o processo é chamado de recombinação homóloga. Ao contrário, se a inserção do DNA ocorrer ao acaso, o processo é denominado recombinação heteróloga. Uma vez estabelecido o DNA no genoma da

célula (cromossomo ou cloroplasto), seqüências exógenas são quimicamente indistinguíveis daquelas da célula vegetal, ou seja, a origem da seqüência de DNA não interfere nos processos de replicação e segregação. Para a obtenção das plantas Bt, segundo Prescott et al. (1999), quatro técnicas de transformação têm sido correntemente utilizadas: sistema *Agrobacterium*, eletroporação, biobalística e microinjeção.

O rendimento de qualquer um desses métodos de transformação é extremamente baixo, e para obter alto nível de transformantes, a seleção, em geral, é feita por meio de cultura de tecidos indiferenciados (calos) sobre um meio seletivo normalmente contendo antibiótico ou herbicida. Posteriormente, as células são estimuladas a iniciar um processo de diferenciação, para em seguida formar uma planta regenerada e fértil.

Estratégias de seleção de plantas transformadas

Uma das etapas essenciais ao sucesso na obtenção de uma planta transgênica é a seleção de clones estáveis para a formação de plantas adultas nas quais podem ser quantificados os níveis de expressão da molécula de interesse. Entre as estratégias correntemente utilizadas para recuperar transformantes, estão: o emprego de genes de resistência a um agente químico seletivo, como um antibiótico ou um herbicida; o uso de genes que conferem um fenótipo que permite seleção visual ou física (como o desenvolvimento da coloração); ou a identificação de plantas transformadas por meio de amplificação do gene inserido por PCR (Reação de Polimerização em Cadeia) ou por *Southern blot*.

A utilização de agentes seletivos é extremamente vantajosa em relação a outros métodos, por isso é o método mais empregado na seleção de OGMs. Em meio seletivo, esses agentes impedem o desenvolvimento de células não-transforma-

das, ou seja, que não são portadoras dos transgenes, não havendo necessidade de posterior separação entre células transformadas e não-transformadas. Entre os genes de resistência a antibióticos mais utilizados, destacam-se o gene *bla_{TEM}*, que codifica resistência aos aminoglicosídeos, como a ampicilina e a penicilina, o gene *aadA*, que confere resistência à estreptomicina e à espectinomicina, e um gene *aph*, mais especificamente o *aph(3')*, também designado *nptII*, que codifica para a resistência à kanamicina e à neomicina.

A preocupação com os possíveis efeitos ambientais indesejáveis dos genes de resistência aos antibióticos foi um dos principais fatores que incentivaram o desenvolvimento de novas tecnologias de clonagem. Entre elas, a técnica em que as células vegetais são transformadas com construções específicas em que o gene de resistência ao antibiótico se encontra flanqueado por seqüências de DNA denominadas *lox*. Posteriormente, as plantas obtidas são cruzadas com outras plantas transgênicas contendo o gene *cre*, que codifica para a recombinase Cre. Dentre as plantas resultantes, obtêm-se aquelas em que o gene de resistência ao antibiótico foi retirado mediante a recombinação das seqüências *lox*, mantendo-se, no entanto, o gene de interesse. Um exemplo desse processo é encontrado no trabalho de Ow (2002).

Entre os métodos que permitem a seleção visual dos transformantes, destaca-se a utilização de genes que codificam para a formação de pigmentos, sendo visualizada coloração específica nos transformantes. A enzima beta-glucuronidase é a base do sistema GUS, cuja expressão é verificada em meio de cultura em condições propícias ao desenvolvimento da coloração azul pelas células transformadas. Essas células são então separadas daquelas sem a coloração e transferidas para um novo meio de cultura, para a regeneração de uma planta adulta. Um exemplo do em-

prego desse sistema pode ser encontrado no trabalho de Arencibia et al. (1997).

Quando o número de células transformadas é baixo, pode-se também verificar a ocorrência de transformação por meio de reações de PCR, utilizando-se um iniciador cuja seqüência seja complementar ao gene trabalhado (no caso de planta Bt, o próprio gene *cry*). Também, pode-se utilizar o método *Southern blot*, detectando-se a presença de seqüências de DNA por meio da hibridação com um fragmento de DNA, marcado radioativamente ou por meio de métodos colorimétricos.

Após a confirmação da estabilidade do gene, mediante a verificação do fenótipo, deve-se então verificar e, ou, quantificar sua expressão. Entre os métodos utilizados, destaca-se *Northern blot* (detecção do RNAm), *Western blot* (detecção da proteína codificada pelo gene) e ensaios imunológicos. Posteriormente, é feita a constatação e a quantificação da atividade inseticida da planta transgênica, por meio de bioensaios com os insetos-alvo.

Alterações moleculares dos genes *cry*

Antes de serem introduzidos numa planta, os genes *cry* devem ser alterados em sua seqüência de DNA por mutagênese sítio-dirigida. Isso é necessário para que as diferenças nos mecanismos de expressão entre organismos procariontes e eucariontes não bloqueie ou diminuam a expressão do gene. Alguns exemplos de alterações, realizadas na obtenção de algumas plantas Bt, são apresentados a seguir.

Os primeiros experimentos, para a obtenção de plantas expressando genes *cry*, foram realizados usando o gene *cry1A* inteiro. No entanto, somente baixos níveis de proteínas Cry foram obtidos e a planta não apresentou qualquer atividade inseticida. Os primeiros sucessos foram obtidos pela expressão de fragmentos de genes *cry* que codifi-

cam para a parte tóxica de proteínas Cry. Dessa forma, a expressão de fragmentos truncados dos genes *cry1Aa* e *cry1Ab* em plantas de tabaco resultaram em níveis significantes de produção de proteínas Cry e eficiente controle de lagartas de *Manduca sexta*.

No entanto, níveis de expressão de genes *cry* nativos truncados em plantas levam à produção de cerca de 0,001% do total de proteínas solúveis, sendo esses níveis menores que aqueles obtidos com outros transgenes. Isso se deve ao fato do genoma da planta apresentar alto conteúdo de Guanina (G) e Citosina (C), enquanto os genes *cry* têm alto conteúdo de Adenina (A) e Timina (T), o que pode levar a planta a processamentos incorretos e à formação de RNAm não-funcionais. Além disso, os códons usualmente presentes em genes *cry* são raramente utilizados em plantas, o que pode provocar pausas no ribossomo e talvez acelerar a degradação do RNAm do gene *cry* contido nas plantas.

Muitas plantas Bt foram construídas com os genes *cry1Ab* e *cry1Ac* truncados, mas outros genes também têm sido utilizados, como o *cry9C* em milho, resultando em proteção contra *Ostrinia nubilalis*, e a inserção do gene *cry3A* em batatas, que levou à expressão da produção de altos níveis da proteína Cry3A e ao controle de *Leptinotarsa decemlineata*. Além desses genes, foi construída uma versão do gene *cry1C* para a obtenção de altos níveis de expressão em plantas, proporcionando a proteção de tabaco e alfafa contra as lagartas *Spodoptera littoralis* e *S. exigua* e de brócolis contra *Plutella xylostella*.

Com o passar dos anos e o desenvolvimento de novos métodos moleculares, outras gerações de plantas Bt surgem, cada vez mais seguras e voltadas não só ao controle do(s) inseto(s)-alvo, mas também à conservação das condições ecológicas estabelecidas nas áreas de cultivo. Com esse intuito, pesquisadores vêm desenvolvendo plantas em que as

proteínas Cry podem ser expressas somente onde e quando necessárias através do uso de promotores tecido específico, tempo específico ou genes promotores induzíveis. Esses e outros cuidados são tomados no sentido de minimizar o desenvolvimento de resistência dos insetos às proteínas Cry e o fluxo gênico para variedades selvagens. Além disso, deve-se lembrar que várias outras estratégias também têm sido propostas para serem utilizadas no campo e que ajudam a retardar a ocorrência destes eventos.

Análise de risco e adoção das plantas Bt

Os debates sobre a introdução comercial de plantas geneticamente modificadas em algumas regiões do mundo levaram a questionamentos sobre seu impacto potencial no ambiente. Dúvidas surgiram quanto à possibilidade de afetar organismos não alvo, cruzar e produzir plantas daninhas, ter efeito adverso sobre a biodiversidade e reduzir efetivamente o uso de insumos químicos indesejáveis. Embora se saiba do impacto inevitável da agricultura sobre o ambiente, foi questionado o quanto estas plantas afetariam o balanço entre a produção agrícola e a vida silvestre.

A controvérsia atingiu a opinião pública, demandou, e continua demandando, estudos extensos. Tais preocupações da sociedade transformaram as plantas Bt nas mais bem estudadas quanto aos riscos/benefícios envolvidos. A comunidade científica constatou evidências de que os benefícios são elevados para os produtores, porém reconhece que o processo regulatório precisa ser mais bem ajustado. Há um bem documentado histórico de segurança da aplicação de Bt, como produto formulado, no ambiente, devendo agora ser verificada se esta segurança é mantida na diversidade de veículos (como outras bactérias e plantas) desta bactéria bioinseticida.

As discussões que circundam o

processo regulatório das plantas transgênicas, e das plantas Bt especificamente, devem levar em conta a característica peculiar destas plantas de disseminar um princípio inseticida, tendo por veículo a própria planta. A maioria dos pesticidas sintéticos e também os naturais são aplicados por pulverização em tempo e quantidade determinados; a cobertura nunca atinge 100% e, em consequência, o princípio ativo não atinge todas as partes das plantas. O agricultor decide quando, onde e como será aplicado o pesticida tradicional, enquanto o princípio pesticida das plantas transgênicas (como nas plantas Bt) será liberado, na maioria dos casos, durante todo o ciclo de vida da planta e, com frequência, em todas as partes da planta.

Como forma de garantia de segurança para o ambiente e os consumidores, compete aos órgãos públicos de cada país controlar o uso de produtos utilizados no ambiente (alimentos, agricultura, pecuária, saúde pública, entre outros), requerendo sua avaliação adequada previamente ao seu registro para uso comercial. Compete ainda aos mesmos órgãos públicos estabelecer os critérios para a avaliação destes produtos, dentro de normas específicas que considerem as diferenças fundamentais entre produtos químicos e biológicos, transgênicos e não transgênicos, no que se refere a composição, forma de ação e comportamento no ambiente.

Os riscos ambientais analisados para as plantas transgênicas com característica pesticida (caso das plantas Bt) enquadram-se em quatro categorias amplas: - fluxo gênico do transgene para outras espécies ou variedades; - evolução de resistência nas pragas-alvo; - efeitos adversos nas espécies não alvo expostas à proteína Bt; - efeitos da proteína Bt na biota do solo; das quais discutiremos brevemente as duas últimas.

Efeito nas espécies não alvo

Quando estão no campo, as culturas abrigam não somente os insetos-praga, mas também outros artrópodes (parasitóides e predadores), os quais desempenham importante papel na regulação das populações de herbívoros. Em termos ecológicos, essa hierarquia é chamada de interação trófica. As interações tróficas e os mecanismos para a interferência das plantas Bt sobre essas interações são complexos e dependem de muitos fatores, como: nível de resistência da planta, especificidade do novo caráter introduzido/expresso, em quais tecidos este caráter será expresso e por quanto tempo, presença de plantas suscetíveis próximas e manejo da cultura, ou seja, aplicação de inseticidas, controle de plantas invasoras, entre outros. A preocupação que levou a estes estudos foi a de que os insetos-alvo pudessem adquirir a proteína Cry produzida na planta Bt quando se alimentassem dela e, assim, expor a proteína aos inimigos naturais, seja por meio de seus fluidos corpóreos, seja mediante contaminação de suas larvas e disseminação em suas fezes. Há ainda a possibilidade de que, com a redução das aplicações de inseticidas em culturas Bt, as pragas secundárias tornem-se importantes, atingindo o papel de praga primária em relação àquela cultura.

Deve-se ressaltar que, em uma análise de risco, apesar da necessidade de se saber quantos e quais organismos podem consumir os tecidos das plantas, esse consumo e a dispersão deles na cadeia trófica só se constitui em risco se, em nível normal de consumo em campo, resultar em efeitos adversos.

Em 2001, a Agência de Proteção Ambiental americana (EPA) concluiu, em reavaliação do risco apresentado por plantas Bt, que as proteínas Cry de Bt produzidas nas plantas transgênicas não apresentam efeitos adversos às populações de organismos não alvo expostas às quantidades desta proteína que são encontradas nos tecidos dessas plantas ([www.epa.gov/pesticides/biopesti-](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/bt_brad.htm)

[cides/pips/bt_brad.htm](http://www.epa.gov/pesticides/pips/bt_brad.htm)).

Efeitos da proteína Bt na biota do solo

Para que o ecossistema solo permaneça saudável, é necessário manter sua biodiversidade e a estabilidade desta diversidade. Assim, um dano potencial associado a plantas Bt é a possibilidade de alterações nos grupos funcionais presentes no solo, favorecendo determinado grupo em detrimento de outro. Proteínas Bt podem apresentar novo efeito tóxico para a biota, ou ser uma nova fonte de substrato. Mudanças na diversidade dos microrganismos do solo podem alterar irreversivelmente a a dinâmica funcional do sistema solo-planta original.

O assunto é tão extenso quanto a diversidade de micro e macrorganismos presentes no solo. Para efeito de ilustração, podem-se apresentar os seguintes efeitos, potenciais, de plantas Bt na biota do solo:

- Organismos fragmentadores e, ou, decompositores – Plantas Bt exsudam, em maior ou menor quantidade, toxinas através das raízes, que poderiam afetar organismos responsáveis pela ciclagem de matéria orgânica, reduzindo ou impedindo a degradação de compostos como celulose, hemicelulose, quitina, lignina, com consequências para a fertilidade de plantas;

- Organismos envolvidos na fixação de N_2 atmosférico – se toxinas Bt afetarem bactérias envolvidas na fixação biológica do nitrogênio, como as bactérias diazotróficas (*Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Azotobacter*), ou as simbióticas (*Rhizobium* e *Bradyrhizobium*), haverá dano às plantas que se beneficiam desta fixação biológica de N_2 ;

- Organismos produtores de metabólitos secundários – Fungos, bactérias e actinomicetos, produtores de metabólitos secundários (enzimas, antibióticos), podem ser afetados pela

presença de plantas Bt, uma vez que as toxinas Bt podem inibir o desenvolvimento desses organismos no solo, e com isso interromper o ciclo de atividades benéficas desses organismos, como controle biológico natural.

Há muitos artigos científicos que evidenciam a inocuidade e a ausência de efeitos na biota do solo, pois quando presente no solo, parte das moléculas de proteínas Cry é degradada e parte delas é adsorvida às partículas do solo (não apresentando efeito algum sobre minhocas, nematóides, protozoários, bactérias e fungos presentes nele) sendo sugerida a leitura do trabalho de Rumjanek e Fonseca (2003) sobre o tema.

Comentários finais

Todos os sistemas de produção agrícola causam, inevitavelmente, algum impacto ambiental. O uso de plantas e microrganismos, transgênicos ou convencionais constitui mais um fator de impacto, entre os muitos já estabelecidos. A genômica e as ferramentas biotecnológicas podem apresentar benefícios ambientais, devendo ser avaliadas no contexto de cada ecossistema e prática de manejo.

Pode-se, com segurança, concluir que alguns fatores básicos devem, obrigatoriamente, ser considerados numa avaliação de risco potencial ao meio ambiente. Entre esses fatores, podem ser incluídos: comportamento já conhecido ou previsível do organismo transgênico; possibilidade de multiplicação e disseminação em ecossistemas descritos; e impacto conhecido ou previsível sobre plantas, animais e microrganismos-não-alvo. O controle de pragas é essencial para manter a produtividade em níveis elevados, para que não seja necessária a expansão da área agricultável, favorecendo, dessa forma, a preservação ambiental, sem prejuízo da instalação da crescente população.

A avaliação e o estabelecimento de métodos para o estudo de impac-

to de biopesticidas foram apresentados no final dos anos 90. Esses métodos devem ser estabelecidos para as plantas transgênicas, uma vez que as ações voltadas para a segurança ambiental devem promover a preservação da biodiversidade, a manutenção dos ecossistemas e os respectivos padrões de sustentabilidade requeridos. Respostas a questões como sobrevivência, disseminação, colonização e função da liberação desses organismos em seus *habitats* precisam ser obtidas, bem como devem ser considerados os aspectos socioeconômicos e os problemas advindos da ausência de barreiras políticas ou fronteiras que restrinjam a disseminação do organismo. Reconhece-se que a liberação de transgênicos no ambiente sem avaliação apropriada de seu impacto ambiental pode levar a prejuízos importantes, especialmente em função dos custos elevados da tecnologia. Além disso, a biodiversidade está relacionada aos valores e às tradições culturais das comunidades, que não podem ser relegadas a nível inferior de consideração.

Ressalta-se, ainda, que futuras pesquisas com transgêneses devem incluir plantas com maior resistência a doenças e estresses (bióticos e abióticos), com maior conteúdo nutricional, bem como espécies de plantas e animais com capacidade de produzir proteínas de importância farmacêutica, como vacinas. Para tanto são necessárias atuação proativa dos órgãos públicos de pesquisa e uma política pública que preconize sua melhor atuação neste cenário de mudanças econômicas e tecnológicas.

Referências Bibliográficas

Arantes, O.M.N., Vilas-Bôas, L.A., Vilas-Bôas, G.T. 2002. *Bacillus thuringiensis*: Estratégias no controle biológico. In: Serafini, L.A., Barros, N.M., Avedo, J.L. (Eds.). Biotecnologia: Avanços na agricultura e agroindústria. Caxias do Sul: EDUCS. v. 2, p. 269-293.

Arencibia, A., Vázquez, R. I., Prieto, D., Téllez, P., Carmona, E. R., Coego, A., Hernández, L., De la Riva, G. 1997. Transgenic sugarcane plants resistant to stem borer attack. *Molecular Breeding* 3: 247-255.

Capalbo, D.M.F.; Vilas-Bôas, G.T. Arantes, O. M. N. 2004. *B. thuringiensis*: Formulações e Plantas Transgênicas Biotecnologia e Meio Ambiente, Viçosa, 2004, Cap.11, pp 309 a 350.

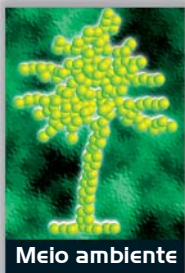
Frankenhuyzen, K. 1993. The challenge of *Bacillus thuringiensis*. In: Entwistle, P.F., Cory, J.S., Bailey, M.J., Higgs, S. (ed.). In: *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice. Chichester: John Wiley and Sons. p. 1-36.

Ow, D.W. 2002. Recombinase-directed plant transformation for the post-genomic era. *Plant Molecular Biology* 48: 183-200.

Rumjanek, N.G., Fonseca, M.C.C. 2003. Possíveis efeitos do cultivo do algodoeiro Bt sobre a comunidade de microrganismos do solo. In: Pires, C.S.S. Fontes, E.M.G. e Sujii, E. R. (eds.). Impacto ecológico de plantas geneticamente modificadas – o algodão resistente a insetos como estudo de caso. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília. p. 117-134.

Suzuki, M.T., Lereclus, D., Arantes, O.M.N. 2004. Fate of *Bacillus thuringiensis* in different insect larvae. *Canadian Journal of Microbiology*, 50: 973-975.

Vilas-Bôas, G. F. L. T., Vilas-Bôas, L. A., Lereclus, D. e Arantes, O. M. N. 1998. *Bacillus thuringiensis* conjugation under environmental conditions. *FEMS Microbiology Ecology* 25: 369-374.



CONSIDERAÇÕES SOBRE O FLUXO GÊNICO



Quais são os verdadeiros riscos do escape gênico

Aluizio Borém

Eng. Agrônomo, M.S., Ph.D. e Professor da
Universidade Federal de Viçosa
borem@ufv.br

Imagem cedida pelo autor

A transformação gênica tem potencial para melhorar a produtividade, resistência, qualidade nutricional e outras características das plantas cultivadas. As técnicas moleculares utilizadas na transformação gênica consistem basicamente na introdução e integração de pequenos fragmentos de DNA isolados e clonados a partir de genes de outros organismos no genoma da espécie receptora. Apesar dos benefícios evidentes dos cultivares geneticamente modificados, a preocupação de que estes possam apresentar algum efeito adverso ao meio ambiente, como o escape dos transgenes, tem sido alvo de estudos por pesquisadores em diversas instituições.

Um dos argumentos contra o emprego de cultivares transgênicos é o risco de fluxo gênico, também

denominado escape gênico ou dispersão gênica, que, no contexto de biossegurança, pode ser entendido como a troca de alelos entre populações ou espécies. De outra forma é a transferência de alelos de uma população/espécie para outra, com a permanência do gene exógeno na população receptora nas gerações seguintes à transferência. A possibilidade de ocorrência de dispersão de transgenes para espécies silvestres tem recebido grande atenção na análise de biossegurança, porque, segundo alguns ambientalistas, esse fato poderia mudar as propriedades genéticas das espécies nativas, com prejuízo para a biodiversidade.

Do ponto de vista evolucionário, o fluxo gênico é um processo migratório de alelos, como se verifica nos compêndios de genética de populações. Como se sabe, o efeito da migração entre populações da mesma espécie depende da proporção de indivíduos migrantes e da diferença nas frequências do alelo nas duas populações (Falconer e Mackay, 1996). No caso dos transgênicos, como a população receptora não possui ainda o gene, não é como a transferência de alelos que normalmente ocorre entre populações. Contudo, ela pode ser tratada do mesmo modo. Deve ser salientado também que genes, uma vez introduzidos no parente silvestre, poderão, por meio da recombinação, ser disseminados. É evidente que a seleção natural irá atuar e, assim, ele só permanecerá na população se conferir alguma vantagem seletiva. Em realidade, o fluxo gênico entre espé-

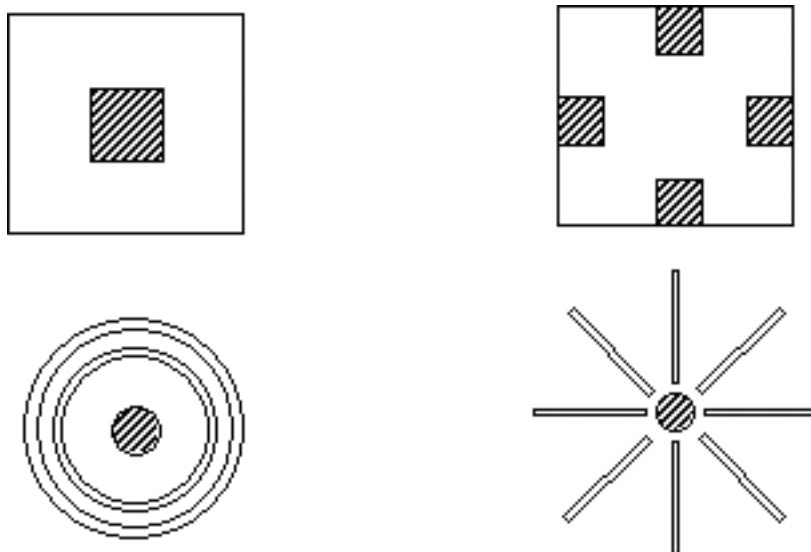


Figura 1. Alguns possíveis delineamentos para avaliação de fluxo gênico

cies relacionadas, que sobrevivem em um mesmo ambiente por milhares de anos, certamente ocorre com frequência e mesmo assim elas podem permanecer com suas propriedades genéticas particulares. Como esse assunto tem sido muito comentado na atualidade, é importante que alguns aspectos do fluxo gênico sejam discutidos e, quando necessário, que sejam adotadas medidas para atenuar algum eventual efeito adverso.

O fluxo gênico pode ocorrer por meio de semente ou por dispersão de pólen. Neste capítulo, a ênfase será a discussão sobre pólen como veículo do fluxo gênico. É também necessário salientar que o fluxo gênico pode ser vertical, quando envolve cultivares e, ou, populações da mesma espécie, ou horizontal, quando envolve a hibridação entre espécies diferentes, aparentadas ou não. Nesse aspecto, é preciso ressaltar que, embora o termo híbrido seja utilizado em diferentes conotações, em genética de populações, ele é utilizado quando envolve o cruzamento entre espécies. Já a expressão recombinação é restrita para os cruzamentos entre populações de mesma espécie (fluxo gênico vertical).

A dispersão de genes de espécies cultivadas para parentes silvestres e espécies daninhas pode ser um problema ecológico. A literatura disponível sobre o assunto sugere que a dispersão de um gene, no espaço e no tempo, dependerá, em parte, da vantagem competitiva do gene, do fluxo gênico e da probabilidade do movimento do gene de um indivíduo para outro em uma geração (Manasse, 1992).

O fluxo gênico por si não é fator de risco. O risco existe quando o gene transferido confere algum perigo à população receptora, alterando sua adaptabilidade ou capacidade de sobrevivência. Se o gene transferido for neutro com relação à capacidade de sobrevivência da população, ele não oferecerá risco ambiental. Entretanto, se o gene reduzir a capacidade de sobrevivência da população receptora, ela poderá eventualmente ser eliminada. De outra for-

ma, se o gene em questão aumentar a adaptabilidade da população, ela poderá prevalecer no meio ambiente. Dessa forma, qualquer avaliação de segurança ambiental decorrente de fluxo gênico deve considerar as possíveis alterações e o gene específico transferido. O leitor deve se referir aos capítulos 6 (Análise de risco) e 13 (Agressividade de plantas daninhas e transgenese) para maiores informações sobre este assunto.

As alterações que ocorrem nas enzimas ou em sua regulação podem interferir em sua atividade original, resultando em vantagem ou desvantagem para o biótipo resistente na presença ou ausência da pressão de seleção. As plantas resistentes podem tornar-se predominantes quando ocorrerem mudanças no ambiente que as favoreçam, isto é, se elas possuírem vantagem competitiva. Entretanto, se a pressão de seleção for removida, sua vantagem comparativa será eliminada e os indivíduos resistentes poderão desaparecer (Vargas et al., 1999). Esse princípio tem sido utilizado no manejo de biótipos resistentes a herbicidas.

Considerando o conceito de espécie (Ramalho et al., 2001), não é esperado que ocorram hibridações. Contudo, em casos esporádicos, com a interferência do homem ou não, ela pode ocorrer. Foi esse fenômeno que deu origem a um grande número de novas espécies, entre elas o trigo cultivado *Triticum aestivum* L., o algodão *Gossypium hirsutum* e várias outras. É importante salientar que esses casos ocorrerem há milhares de anos e, na realidade, o fluxo gênico envolveu o genoma inteiro, e não apenas alelos ou genes.

Fatores que afetam a dispersão de pólen e o fluxo gênico

Tipos de espécie: As espécies cultivadas diferem na taxa de fecundação cruzada. Inclusive são classificadas em autógamas – quando predomina autofecundação, e alógamas, se predomina a fecundação cruzada, além das intermediárias. Como espécies autógamas típicas, citam-se: soja, trigo, feijão e alface, cuja fre-

quência de fecundação cruzada é inferior a 5%. Como alógamas, têm-se o milho, o girassol, a cebola e o eucalipto, entre outras em que a fecundação cruzada é alta, normalmente acima de 90%. Já nas espécies intermediárias, como o algodão, a taxa de alogamia é superior a 5% das autógamas, mas inferior aos 90% das alógamas. O pólen de milho, por exemplo, pode percorrer distâncias superiores a 100 m, pela ação do vento. No caso da soja, o grão de pólen possui maior densidade e a única maneira de dispersá-lo na natureza é de forma entomófila. Mesmo assim, a dispersão do pólen de soja é extremamente limitada.

Diferença entre cultivares da mesma espécie: Há diferença entre os cultivares com relação à cor e ao tamanho das flores, atraindo mais ou menos polinizadores, e à produção de pólen, os quais afetam a taxa de fecundação cruzada. No milho, por exemplo, há grande diferença no tamanho do pendão entre cultivares e por consequência na produção de pólen.

A taxa de fecundação cruzada entre espécies ou entre cultivares da mesma espécie depende da produção e dispersão de pólen (Raybould e Gray, 1993). Modelos matemáticos têm sido utilizados para simular os padrões de dispersão de pólen em milho e outras espécies (Borém, 2001).

Várias condições são necessárias para que o fluxo gênico ocorra em condições de campo: *i*) existência de indivíduos sexualmente compatíveis, *ii*) coincidência temporal e espacial dos indivíduos, *iii*) polinização cruzada, *iv*) grande longevidade do pólen, *v*) híbridos viáveis, *vi*) transmissão gênica nas gerações seguintes, *vii*) recombinação gênica entre os genomas e *viii*) não exclusão do gene do genoma receptor (Chèvre et al., 1998).

A ocorrência de fluxo gênico tem sido investigada em várias espécies utilizando-se diferentes delineamentos de plantio. A escolha de determinado delineamento deve levar em consideração o modo de reprodução da espécie, o veículo de dispersão do pólen, além de aspec-

tos referentes às condições ambientais. Alguns dos mais comuns delineamentos são apresentados na Figura 1.

Fluxo gênico entre as espécies do gênero *Brassica* tem sido observado em alguns trabalhos envolvendo rabanete, canola e espécies afins (Salisbury, 2000; Chrève et al., 1998; Scheduler e Dale, 1994; Klinger et al., 1991).

A dispersão gênica do girassol cultivado para espécies silvestres foi analisada por Arias e Rieseberg (1994) e por Whitton (1997), nos Estados Unidos, onde existem diversas formas silvestres de girassol. Esses pesquisadores detectaram moderados níveis de fluxo gênico entre essas espécies.

A probabilidade de um gene específico de um OGM tolerante a um herbicida ser transferido para uma espécie daninha depende de uma série de fatores, como observado por Conner e Dale (1996). O intercâmbio gênico entre diferentes espécies é extremamente complexo e requer a quebra de várias barreiras de isolamento reprodutivo, sendo algumas das mais frequentes: espécies com *habitats* distintos, espécies com maturidade sexual em épocas distintas, incompatibilidade genética, fraqueza do híbrido, esterilidade híbrida, dreno metabólico e eliminação gênica.

Para que o fluxo gênico entre dois biótipos ocorra, eles devem compartilhar o mesmo *habitat* e deve existir sobreposição do período de florescimento deles. Neste caso, a ocorrência da polinização cruzada dependerá da existência de um agente polinizador eficiente. Se as espécies forem geneticamente compatíveis e houver a fecundação cruzada com a formação de um híbrido viável, o fluxo gênico poderá se estabelecer se o gene transferido não resultar em menor competitividade para o biótipo receptor, bem como não ocorrer a eliminação do gene exótico nas gerações seguintes.

O risco de escape gênico para várias espécies de interesse agrônomo da Inglaterra foi classificado em três categorias, com base na taxa de fecundação cruzada e na existência

de parentes silvestres na natureza: Grupo I (mínimo risco), Grupo II (médio risco) e Grupo III (alto risco) (Raybould e Gray, 1993). No Grupo I foram incluídos batata, milho, trigo, centeio, tomate, dentre outros. O Grupo III inclui cenoura, beterraba, repolho, pinus, maçã, dentre outros. O risco de fluxo gênico do milho para uma espécie silvestre, na Inglaterra, é mínimo, embora seja uma espécie com elevada taxa de fecundação cruzada. Essa reduzida probabilidade de escape gênico deve-se ao fato de naquele país não existirem parentes silvestres do milho ocorrendo na natureza. No entanto, o milho deveria ser classificado no grupo de alto risco no México, centro de diversidade dessa espécie, onde seus parentes silvestres ocorrem espontaneamente na natureza. Portanto, para existir alto risco de escape gênico, a espécie deve apresentar elevada taxa de fecundação cruzada e devem existir parentes silvestres compatíveis com ela, compartilhando o mesmo *habitat*, geográfica e temporalmente. Mesmo nessas condições, outros aspectos relacionados ao isolamento reprodutivo devem ser considerados.

Lonetti e Smale (2000) analisaram o fluxo gênico entre variedades crioulas e variedades melhoradas de milho em uma localidade próxima a uma reserva biológica no México. Apesar dos inúmeros fatores concorrendo para a instabilidade genética das variedades crioulas, a análise morfológica e genética destas parece indicar que a expressão fenotípica dos caracteres agrônômicos permaneceu estável.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas já registrada em diferentes países, proveniente da seleção de tipos preexistentes na população nativa (não de escape gênico), tem sido contornada com a adoção de técnicas adequadas de manejo, que incluem rotação de princípio ativo do herbicida, rotação de culturas, mistura de herbicidas com diferentes mecanismos de ação, controle cultural e cultivo mecânico, entre outros. Dessa forma, na eventualidade de um escape gênico ocor-

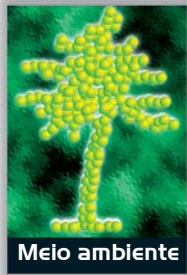
rer de uma variedade transgênica tolerante a um herbicida para espécies silvestres, uma das práticas agrícolas anteriormente descritas pode ser adotada com o objetivo de eliminar os biótipos resistentes.

Bibliografia

- Baker, H. G. 1965. Characteristics and modes of origin of weeds. In: Baker, H.G., Stebbins, G. L. (eds.). The genetics of colonizing species. New York: Academic Press. p. 147-172.
- Bateman, A. J. 1947. Contamination in seed crops - I. Insect pollination. J. Genet. 48: 257-275.
- Borém, A. 2005. Biotecnologia e meio ambiente. Viçosa, MG: UFV. 1. ed. 425 p.
- Borém, A. 2000. Escape gênico: os riscos do escape gênico da soja no Brasil. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento 10:101-107.
- Borém, A. 2001. Escape gênico e transgênicos. Rio Branco: Editora Suprema. 204 p.
- Borém, A. 2003. Melhoramento de plantas. Viçosa: Editora UFV. 3. ed. 500 p.
- Borém, A. e Ramalho, M.A.P. 2002. Escape gênico e impacto ambiental. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento 28: 44-47.
- Borém, A., Freire, E.C., Pena, J.C.V. e Barroso, P.A.V. 2003. Considerations about cotton gene escape in Brazil: a review. Crop Breeding and Applied Biotechnology 3: 315-332.
- Brasileiro, A.C.M. e Cançado, G.M.A. 2000. Plantas transgênicas. Informe Agropecuário 21: 28-35.
- Brubaker, C.L., Brown, A.H.D., Stewart, J.M., Kilby, M.J. e Grace, J.P. 1999. Production of fertile hybrid germplasm with diploid Australian *Gossypium* species for cotton improvement. Euphytica 108: 199-213.
- Burrows, P. 1999. Deliberate release of genetically modified organisms: the

- UK regulatory framework. In: Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops. Proceedings of a symposium held at Keele, UK 13-21pp. BCPC Symposium Proceedings No.72. Farnham, UK: British Crop Protection Council.
- Cançado, G.M.A. 2000. Plantas transgênicas e biossegurança. Informe Agropecuário 21: 89-96.
- Carvalho, N.F., Frendo, P. Montagu, M., e Cornelissen, M. 1995. Post-transcriptional cosuppression of β -1, 3-glucanase genes does not affect accumulation of transgene nuclear mRNA. The Plant Cell 7: 347-358.
- Chèvre, M.A., Eber, F., Baranger, A., Hureau, G. Barret, P., Picault, H., Renard, M. 1998. Characterization of backcross generations obtained under field conditions from oilseed rape-wild radish F1 interspecific hybrids: an assessment of transgene dispersal. Theoretical and Applied Genetics 97: 90-98.
- Conner, A.J., Dale, P.J. 1996. Reconsideration of pollen dispersal data from field trials of transgenic potatoes TAG, 92: 505-508.
- Department of the Environment. 1994. Genetically modified crops and their wild relatives - A UK perspective. Research Report No. 1.
- Doebley, J., Stec, A. , Wendel, J. e Edwards, M. 1990. Genetic and morphological analysis of a maize-teosinto F2 population: implications for the origin of maize. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 9888-9892.
- Eastham, K. e Sweet, J. 2002. Genetically modified organisms (GMOs): The significance of gene flow through pollen transfer. European Environment Agency. Copenhagen, Germany.
- Emberlin, J., Adams-Groom, B. e Tidmarsh, J. 1999. The dispersal of maize (*Zea mays*) pollen. A report commissioned by the Soil Association: National Pollen Research Unit, University College Woecester, UK.
- Falconer, D. S., Mackay, T. F. C. 1998. Introduction to quantitative genetics. 4 ed. Edinburgh: Longman Group. 464 p.
- Freire, E.C., Barroso, P.A.V., Pena, J.C.V. e Borém, A. 2002. Fluxo gênico: análise do caso do algodão no Brasil. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento 29: 104-113.
- Gabriel, W. 1993. Technologically modified genes in natural populations: some skeptical remarks on risk assessment from the view of population genetics. In: Wohrmann, K. e Tomiuk, J. (eds.). Transgenic Organisms: Risk Assessment of Deliberate Release. Basel: Birkhauser Verlag. p. 109-116.
- Gliddon, C., Boudry, P. e Walker, D.S. 1990. Gene flow - a review of experimental evidence. In: Gray, A.J., Amijes, F. e Gliddon, C.J. (eds.). Environmental impact of genetically modified crops. Genetically Modified Organisms Research Report 10-pp 67-81. Londres: DETR.
- Govindaraju, D. R. 1988. Relationship between dispersal ability and levels of gene flow in plants. Oikos 52: 31-35.
- Greef, W. 1999. A long term perspective on Ag-biotech. In: Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops. Proceedings of a symposium held at Keele, 33-37p. BCPC Symposium Proceedings No.72. British Crop Protection Council.
- Haldane, J.B.S. 1948. The theory of a cline. Journal of Genetics 48: 277-284.
- Hamner, K.C., Bonner, J. 1938. Photoperiodism in relation to hormones as factors in floral initiation and development. Botanical Gazette 100: 388-431.
- Hartwig, E.E. 1973. Varietal development. In: Caldwell, B.E. (ed.). Soybeans: improvement, production, and uses. Madison, WI: ASA Press. p.187-210.
- Hersnsen, J. G. T. 1992. Introductory considerations on distant hybridization. In: Kalloo, G. e Chowdhury, J. B. (eds.): Distant hybridization of crop plants. Berlin: Springer Verlag p. 1-14.
- Hinson, K. 1989. The use of long juvenile trait in cultivar development. In: Pascale, A.J. (ed.). Actas. Conferência Mundial de Investigación en Soja. Buenos Aires: Argentina. p.983-987.
- Ingram, J. 2000. Report on the separation distances required to ensure cross-pollinations is below specified limits in non-seed crops of sugar beet, maize and oilseed rape. MAFF Project No 0123.
- Jones, M. D. e Brooks, J. S. 1950. Effectiveness of distance and border rows in preventing outcrossing in corn. Oklahoma Agricultural Experimental Station. Technical Bulletin No. T-38.
- Kareiva, P., Morris, W. e Jacobi, C. M. 1994. Studying and managing the risk of cross-fertilization between transgenic crops and wild relatives. Molecular Ecology 3: 15-21.
- Kissmann, K.G. 1996. Resistência de plantas a herbicidas. São Paulo: Basf Brasileira S.A. 33p.
- Klingler, T., Elan, D.R. e Ellstrand, N.C. 1991. Radish as a model system for the study of engineering gene escape rates via cropweed mating. Conservation Biology 4: 531-535.
- Kuehl, R.O. 1961. Pollen viability and stigma receptivity of *Glycine max* (L.) Merrill. Raleigh: North Carolina State College. (MS Thesis).
- Lavigne, C., Godelle, B., Reboud, X. e Gonyon, P.H. 1996. A method to determine the mean pollen dispersal of individual plants growing within a large pollen source. Theoretical and Applied Genetics 93: 1319-1326.
- Levin, D.A. e Kerster, H. 1974. Gene flow in seed plants. Evolutionary Biology 7: 139-220.
- Louette, D., Smale, M. 2000. Farmer's seed selection practices and traditional maize varieties in Cuzalapa,

- Mexico. *Euphytica*, 113: 25-41.
- Luna, V. et al. 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Science* 41: 1551-1557.
- Manasse, R.S. 1992. Ecological risks of transgenic plants – effects of spatial dispersion on gene flow. *Ecological Applications* 2:431-438.
- Nelson, R.L., Bernard, R.L. 1984. Production and performance of hybrid soybeans. *Crop Sci.* 24: 549-553.
- Paterniani, E. e Goodman, M.M. 1977. Races of maize in Brazil and adjacent areas. International Maize and Wheat Improvement Center. Mexico, DF. CYMMIT.
- Paterniani, E. e Stort, A. C. 1974. Effective maize pollen dispersal in the field. *Euphytica* 23: 129-134.
- Ramalho, M. A. P., Santos, J. B. e Pinto, C. A. B. P. 2001. Genética na agropecuária. 2.ed. Lavras: UFLA 472 p.
- Raybould, A. F. e Gray, A. J. 1993. Genetically modified crops e hybridization with wild relatives: A UK perspective. *Journal of Applied Ecology* 30: 199-219.
- Raybould, A.F., Gray, A.J. 1993. The impact of genetically modified crops on wild species in United Kingdom. In: Proceeding of Symposium Gene Transfer: Are Wild Slecoes Om Damger. Le Louvain, Suíça.
- Regal, P.J. 1994. Scientific principles for ecologically based risk assessment of transgenic organisms. *Mol. Eco.* 3: 5-13.
- Sage, G.C.M. 1999. The role of DNA technologies in crop breeding. In: Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops. Proceedings of a Symposium Held at Keele, 23-31pp. BCPC Symposium Proceedings No.72. British Crop Protection Council.
- Salamov, A. B. (1940) About isolation in corn. Sel. I. Sem., 3. (Russian translation by Michael Afanasiev in 1949).
- Salisbury, P.A. 2000. Proceedings of The myths of gene transfer – a canola case study. Biotechnology Seminar. Clayton: Manash University Press. p. 71-76.
- Schettler, J.A., Dale, P.J. 1994. Opportunities for gene transfer from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) to related species. *Transgenic Research* 3: 263-278.
- Sears, M. K. e Stanley-Horn, D. 2000. Impact of *Bt* corn pollen on monarch butterfly populations. In: Fairbairn, C., Scoles, G. e McHughen, A. (eds.). Proceedings of the 6th International Symposium on The Biosafety of Genetically Modified Organisms. University Extension Press, Canada.
- Shanmugasundaram, S. 1981. Varietal differences and genetic behavior for the photoperiodic responses in soybeans. *Bull. Inst. Trop. Agr., Kyusho Univ. (Japan)* 4: 1-61.
- Singh, R.J., Kollipara, K.P., Hymowitz T. 1988. Further data on the genomic relationships among wild perennial species of the genus *Glycine* Willd. *Genome* 33: 166-176.
- Skorupska, H., Albertsen, M.C., Langholz, K.D., Palmer R.G. 1989. Detection of ribosomal-rna genes in soybean (*Glycine max*(L) Merr., by insitu hybridization. *Genome*, 32: 1091-1095.
- Skvortzov, G. 1927. The soybean - wild and cultivated in Eastern Asia. *Proc. Manchurian Res. Pub. Ser. A. Nat. History Sec.* 22: 1-8.
- Thomas, J.F. 1989. The flowering process in soybean. In: Proceedings of World Soybean Research Conference IV. Buenos Aires. p.250-255.
- Tiedje, J.M., Clwell, R.K., Grossman, Y.L., Hodoson, R.E., Lenski, R.E., Mack, R.N., Regal, P.J. 1989. The planned introduction of genetically engineered organisms: ecological considerations and recommendations. *Ecology* 70: 289-315.
- Treu, R. e Emberlin, J. 2000. Pollen dispersal in the crops maize (*Zea mays*), oil seed rape (*Brassica napus*ssp. *oleifera*), potatoes (*Solanum tuberosum*), sugar beet (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*) and wheat (*Triticum aestivum*). *Soil Association* 2: 144-149.
- Tufto, J., Engen, S. e Hindar, K. 1997. Stochastic dispersal process in plant population. *Theoretical and Applied Genetics* 28: 114-138.
- Van Schaik, P.H., Probst, A.H. 1958. Effects of some environmental factors on flower production and reproductive efficiency in soybeans. *Agronomy Journal* 50: 192-197.
- Walker, A. K., Cianzio, S. R., Bravo, J.A. 1979. Comparison of emasculation and non-emasculation for artificial hybridization of soybeans. *Crop Sci.* 19: 285-286.
- Weatherwax, p. 1955. Structure and development of reproductive organs. In: Sprague, G. F. (ed.). Corn and corn improvement. New York: Academic Press. p. 89-121.
- Weber, F.R., Hanson, P. 1961. Natural hybridization with and without ionizing radiation in soybeans. *Crop Sci.* 1: 389-392.
- Whitton, J., Wolf, D.E., Arias, D.M., Snow, A.A., Rieseberg, L.H. 1997. The persistence of cultivar alleles in wild populations of sunflowers generations after hybridization. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 33-4
- Wilkes, H. G. 1977. Hybridization of maize and teosinte, in Mexico and Guatemala e the improvement of maize. *Economic Botany* 31: 254-293.
- Wohrmann, K., Tomiuk, J., Pollex, C. e Grimm, A. 1993. Evolutionsbiologische Risiken bei Freisetzungen genetisch veränderter Organismen in die Umwelt. Berlin: Bundesminister für Umwelt. 183p.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28: 114-138.



VARIEDADES TRANSGÊNICAS E MEIO AMBIENTE

Segurança ambiental das variedades comerciais

Aluizio Borém

Eng. Agrônomo, M.S., Ph.D. e Professor da Universidade Federal de Viçosa
borem@ufv.br

As variedades geneticamente modificadas foram, pela primeira vez, comercialmente plantadas em 1994, com o lançamento do tomate *Flavr Savr*, nos Estados Unidos. Desde então, estas variedades vêm sendo cultivadas em áreas crescentes em diversos países, tanto nas Américas quanto na Europa, África e Oceania. A área cultivada com variedades transgênicas atingiu, em 2003, 67,8 milhões de hectares, envolvendo mais de 17 países e dezenas de espécies importantes na produção de víveres. Todos os grandes produtores e exportadores mundiais de alimentos já utilizam essa tecnologia.

A seguir são apresentadas, a título de ilustração, considerações sobre a segurança ambiental de algumas variedades geneticamente modificadas e que são plantadas em vários países. As considerações sobre a segurança alimentar de algumas delas são discutidas no livro *Biotechnology e Nutrição* (Costa e Borém, 2003). O leitor poderá encontrar na literatura especializada, bem como em *sites* das agências reguladoras dos organismos geneticamente modificados, dados específicos referentes às demais análises de biossegurança realizadas com essas variedades.

Soja tolerante a herbicida – Evento GTS 40-3-2

A soja (*Glycine max*) é cultivada em mais de 80 países, gerando mais de 162 milhões de toneladas métricas de grãos. O Brasil é o segundo maior produtor e exportador dessa leguminosa. A soja é utilizada como constituinte em muitos alimentos pro-

cessados e representa a principal fonte de óleo e de proteína para uso em rações destinadas à alimentação animal.

Plantas daninhas constituem um dos principais fatores limitantes na produção agrícola desta cultura. Tipicamente, elas são controladas com uma combinação de práticas culturais (aração e gradagem) e métodos químicos. Dependendo das espécies daninhas prevaletentes, herbicidas, como trifluralina, metribuzim e outros, são aplicados. A soja RR, obtida via transformação gênica, evento GTS 40-3-2, foi desenvolvida pela Monsanto para ser tolerante ao herbicida glifosato, visando permitir seu uso no controle das plantas daninhas. Essas variedades de soja possuem uma forma modificada da enzima EPSPS (5-enolpiruvil chiquimato-3-fosfato sintase) que permite à planta sobreviver à aplicação do herbicida glifosato. O gene inserido nessas variedades foi extraído da bactéria natural do solo *Agrobacterium tumefaciens* estirpe CP4.

Resumo dos elementos genéticos introduzidos

Gene: *cp4 epsps* (5-enolpiruvil chiquimato-3-fosfato sintase) de *Agrobacterium* sp. cepa CP4.

Peptídeo de trânsito: ctp

Promotor: E35S.

Finalizador: *nos 3'*

Características da soja

Centro de origem: Sudeste da Ásia; espécies de soja silvestre são endêmicas na China, na Coreia, no Japão, em Taiwan; raramente exibe

qualquer característica de dormência de sementes, não é forte competidor com outras espécies silvestres ou cultivadas.

Modo de reprodução: autofecundação.

Características do organismo doador

Agrobacterium tumefaciens é uma bactéria nativa do solo que vem sendo largamente utilizada em transformação gênica nos últimos 17 anos. É considerada segura para o homem e animais, não havendo nenhuma evidência ou relato de qualquer efeito adverso por ela causado.

Considerações sobre segurança ambiental

Testes em campo

A soja RR, evento GTS 40-3-2, foi testada nos Estados Unidos, no Canadá, em Porto Rico, no México, na Argentina, na Costa Rica, e em outros países a partir do início da década de 90. No Brasil, esses estudos iniciaram-se a partir de 1997. Estudos agrônômicos de rendimento de grãos, adaptabilidade, estabilidade de comportamento, incluindo outras características agrônômicas, foram conduzidos em diferentes ambientes e anos de plantio. Os dados coletados indicam que esta soja é tão segura para o plantio em escala comercial quanto as demais variedades convencionais e que ela não oferece nenhum risco para o meio ambiente ou para os sistemas agrícolas de se tornar uma planta invasora.

Taxa de fecundação cruzada

A introgressão do gene de tolerância ao glifosato da soja RR é extremamente improvável de acontecer, uma vez que no Brasil e demais países da América nenhum parente da soja cultivada é encontrado, além de esta espécie ser autógama, isto é, de autofecundação, com taxa de fecundação cruzada em geral menor que 1% (Borém, 2000; Sedyiyama et al., 1999).

A soja cultivada (*Glycine max*) cruza naturalmente com a espécie silvestre *G. soja*. Porém, esta só ocorre naturalmente na China, na Coreia, no

Japão, em Taiwan e na Rússia e não é encontrada no meio ambiente no Brasil. Dessa forma, a probabilidade de transferência da característica tolerância ao glifosato da soja RR para seus parentes ou para outras espécies, por fluxo gênico, é muito pequena.

Invasibilidade

O gene *cp4 epsps* do evento GTS 40-3-2 não conferiu nenhuma vantagem competitiva ou maior habilidade de sobrevivência à soja na natureza, características típicas de espécies invasoras e colonizadoras. A tolerância ao glifosato só confere vantagem competitiva às plantas submetidas a pulverizações com esse herbicida. Adicionalmente, a soja cultivada não exibe nenhuma característica típica de espécies daninhas, como dormência de sementes, desuniformidade de maturação, sistema de dispersão de sementes, hábito de crescimento trepador, dentre outras. Conclui-se, então, que a soja RR não possui potencial para invadir e, ou, colonizar ecossistemas agrícolas ou silvestres, portanto é considerada segura para o plantio comercial.

Efeitos adversos secundários

Dados de campo da soja RR, evento GTS 40-3-2, mostraram ausência de efeitos adversos em organismos-não-alvo, sugerindo que a proteína CP4 EPSPS modificada presente nos tecidos da planta transgênica não foi tóxica aos organismos benéficos encontrados na natureza. A proteína CP4 EPSPS não resultou em toxicidade alterada ou alergenicidade, como demonstrado em estudos com dose oral aguda e crônica com ratos e outros animais em laboratório (Costa e Borém, 2003). Adicionalmente, o fato de que proteínas homólogas a EPSPS são onipresentes na natureza e comuns em plantas, fungos e alguns outros micróbios indica sua segurança para organismos-não-alvo. A alta especificidade dessa enzima para seu substrato torna improvável que a enzima introduzida metabolize outros substratos endógenos para produzir compostos secundários tóxicos aos organismos benéficos. Todos os dados experimentais indicam que a soja ge-

neticamente modificada, evento GTS 40-3-2, não possui nenhum efeito adverso sobre organismos benéficos ou em organismos-não-alvo.

Efeito sobre a biodiversidade

A soja RR não possui nenhuma característica fenotípica nova que promoveria a extensão de seu plantio além das regiões geográficas onde atualmente se cultiva esta leguminosa. Como não há nenhum parente silvestre da soja no Brasil e esta não é uma espécie invasiva e colonizadora, a característica tolerância ao glifosato seguramente não será transferida a outras espécies, modificando a biodiversidade nativa presente no Brasil.

Milho resistente a lagartas – Evento MON810

O milho é cultivado comercialmente em mais de 100 países. Os três maiores produtores mundiais são Estados Unidos, China e Brasil. O milho é matéria-prima para a produção de amido, cuja maioria é transformada em adoçantes e produtos fermentados. Óleo de milho é extraído do germe dos grãos, sendo apenas pequena parte dos grãos inteiros utilizada diretamente na alimentação humana. Entretanto, derivados dessa espécie estão na mesa do brasileiro diariamente na forma de cereais (sucrilhos), pães, bolos e produtos indiretos, como laticínios, ovos etc.

As lagartas, da ordem dos Lepidópteros, são as mais sérias pragas da cultura do milho. O uso de inseticidas químicos tem sido o método mais comum de controle dessas pragas nas últimas décadas. Dois importantes aspectos do controle químico das lagartas têm estimulado os cientistas a buscar formas alternativas de controle: poluição ambiental decorrente dos inseticidas e seu elevado custo.

O evento MON810 foi desenvolvido pela Monsanto, com a introdução do gene *cry1Ab* proveniente da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt). Esse gene codifica para a produção da proteína Cry1Ab, uma deltaendotoxina. MON810 produz essa proteína em uma dose efetiva durante

o ciclo da cultura, controlando algumas lagartas-praga do milho.

A deltaendotoxina Cry1Ab vem sendo amplamente usada na agricultura, inclusive por produtores orgânicos, como formulações comerciais. O uso de Bt para controle biológico das pragas é um procedimento bem conhecido e aceito por mais de 30 anos. Adicionalmente, *Bacillus thuringiensis* é uma bactéria com disseminação natural no ambiente e em alimentos e completamente inócua aos mamíferos, inclusive ao homem.

Desde 1997, o evento MON810 é adotado com sucesso nos Estados Unidos, com a denominação YieldGard, sem que qualquer efeito adverso tenha sido observado, enquanto a produtividade aumenta por volta de 10%. Seu uso foi aprovado nos Estados Unidos, na Europa, no Japão, no Canadá e em alguns outros países. Todas as aprovações sucederam a extensivos testes de biossegurança.

Resumo dos elementos genéticos introduzidos

Gene: *cry1Ab*, que codifica para a produção da proteína delta endotoxina Cry1Ab, de *Bacillus thuringiensis subsp. Kurstaki*.

Promotor: E35S.

Características do milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea monóica, isto é, tem órgãos masculino (pendão) e feminino (espiga) separados, porém na mesma planta. A inflorescência masculina (pendão) localiza-se na parte terminal do colmo, enquanto as femininas (espigas), nas axilas foliares. A quantidade de pólen produzida é muito acima da necessidade da planta. Há estimativas de que, para cada óvulo que se desenvolve em um grão, a planta produza de 9.000 a 50.000 grãos de pólen (Weatherwax, 1955). Depreende-se então que, se considerada a espiga com média de 500 grãos, tem-se cerca de 4,5 a 25 milhões de grãos de pólen por planta (Eastham e Sweet, 2002).

Modo de reprodução: Tipicamente fecundação cruzada, com taxa de alogamia em torno de 95%, sendo a dispersão do pólen feita pelo vento. A viabilidade do pólen é de cerca de

30 minutos após sua liberação em condições ambientais. O milho é sexualmente compatível com o teosinto e raramente com outras espécies do gênero *Tripsacum*.

Características de organismo do doador

Embora pragas-alvo, tipicamente lagartas, sejam suscetíveis a doses orais da proteína Bt, não há evidências de efeitos tóxicos a mamíferos ou pássaros à dose de até 10µg proteína/g de peso corporal. A proteína Bt tem sido considerada um dos bioinseticidas mais seguros, tanto que é facultado aos agricultores orgânicos o seu uso no controle de pragas.

Considerações sobre segurança ambiental

Testes em campo

Avaliações em campo de produtividade, adaptabilidade, estabilidade de comportamento, resistência ao acamamento e outras características agrônômicas foram feitas em diferentes ambientes e anos de plantio com o milho Bt, evento MON810. Todos os dados indicam que variedades contendo este evento são tão seguras para o plantio comercial como as convencionais e que elas não oferecem riscos para o meio ambiente ou para os sistemas agrícolas.

Foi constatado nos experimentos conduzidos que o evento MON810 não alterou a produção, viabilidade e demais características do pólen. Foi também observado que a dispersão do pólen pelo vento e a taxa de fecundação cruzada não foram alteradas pela inserção do *gene cry 1Ab*. O fluxo de genes entre variedades contendo o evento MON810 e outras variedades deverá ser semelhante ao que já acontece naturalmente entre as variedades convencionais. No Brasil, onde não há nenhuma espécie silvestre sexualmente compatível com milho, a probabilidade de fluxo gênico para outras espécies é extremamente remota.

O milho (*Zea mays* ssp. *mays*) é sexualmente compatível e cruza livremente com o teosinto (*Zea mays* ssp. *mexicana*) quando florescendo simul-

taneamente e em proximidade física. Esse parente de milho é nativo da América Central e não é encontrado no Brasil. *Tripsacum*, outro gênero filogeneticamente relacionado a *Zea*, contém 16 espécies, das quais 12 são nativas do México e da Guatemala.

Invasibilidade

MON810 não confere nenhuma vantagem competitiva. Assim, é extremamente improvável que o milho ainda que modificado com este evento consiga se estabelecer em ecossistemas silvestres, pois durante o seu processo de domesticação ele perdeu as características típicas de plantas invasoras e colonizadoras, tornando-se dependente do homem para completar seu ciclo de vida no meio ambiente. Todas as evidências experimentais indicam que o milho não sobrevive como uma planta daninha, pois é fraco competidor e possui dispersão de semente muito limitada.

Efeitos adversos secundários

A história de uso e os dados de pesquisa reportados na literatura científica mostram que a proteína Bt não é tóxica a humanos, outros vertebrados e insetos benéficos. A parte ativa desta proteína expressa no milho MON810 (Cry1Ab) é equivalente à proteína microbiana original, amplamente utilizada na agricultura nos últimos 30 anos. Esta proteína só é ativa contra insetos lepidópteros (lagartas).

Linhagens e híbridos de milho que produzem a proteína Cry1Ab foram comparados em experimentos de campo aos seus análogos convencionais (isogênicos). Os dados mostram que a população relativa de artrópodes benéficos foi similar entre os materiais geneticamente modificados e os convencionais. Esses estudos de campo mostraram que Cry1Ab não teve efeito adverso direto ou indireto nas populações de artrópodes benéficas. Foram realizados experimentos de alimentação controlada e com várias espécies de insetos-não-alvo, incluindo abelha melífera, himenópteros benéficos, joaninhas, invertebrados aquáticos e do solo, bem como minhocas. Em todos os casos não houve nenhum efeito adverso sobre essas espécies

estudadas. Em resumo, quando comparado com variedades convencionais de milho, o MON810 não apresentou risco para organismos-não-alvo ou benéficos, inclusive o homem. Portanto, todos os dados experimentais indicam que o milho geneticamente modificado, evento MON810, é seguro sob o ponto de vista ambiental.

Efeito sobre a biodiversidade

O milho não possui nenhuma característica fenotípica nova que promoveria a extensão de seu plantio além das regiões geográficas onde atualmente é cultivado. Como não há nenhum parente silvestre desta leguminosa no Brasil e como esta não é uma espécie invasiva ou colonizadora, a característica resistência a lagartas seguramente não será transferida a outras espécies, modificando a biodiversidade nativa.

Outras considerações

Para se prolongar a efetividade da toxina Bt no milho e nas formulações comerciais, recomenda-se a implementação de Programas de Manejo da Resistência (PRM). Esses programas foram estabelecidos nos países que já cultivam variedades que produzem Bt em seus tecidos, inclusive o milho MON810, e requerem que produtores plantem determinada área com variedades convencionais, faixas de escape ou refúgio, para reduzir a pressão de seleção de insetos resistentes à proteína Bt. Detalhes específicos e exigências dos programas PMR são discutidos no capítulo 10 deste livro.

Algodão resistente a lagartas – Evento 531

A Monsanto desenvolveu uma variedade de algodão geneticamente modificado tolerante às principais pragas da ordem Lepidoptera no Brasil, como o curuquerê (*Alabama argillacea*), a lagarta-rosada (*Pectinophora gossypiella*) e a lagarta-da-maçã (*Heliothis virescens*). O algodão geneticamente modificado, referido como Algodão Bollgard® evento 531, foi obtido por meio do sistema de transformação de plantas mediado

por *Agrobacterium tumefaciens*. Esse processo resultou na introdução estável de três genes no genoma da variedade convencional Coker 312: *cry1Ac*, o gene neomicina fosfotransferase tipo II (*nptII*) e o 3''(9)-O-aminoglicosídeo adenililtransferase (*aad*). O gene *cry1Ac* é derivado de *Bacillus thuringiensis* (Bt), uma bactéria naturalmente encontrada no solo, que codifica para a produção da proteína Cry1Ac, de ação biocida sobre insetos lepidópteros. Os genes *nptII* e *aad* são derivados da bactéria *Escherichia coli* e codificam para a produção das proteínas NPTII e AAD, respectivamente, conferindo resistência a antibióticos durante as fases iniciais do processo de transformação do algodão. A proteína NPTII confere resistência aos antibióticos aminoglicosilados canamicina e neomicina, funcionando como marcador de seleção de células vegetais transformadas. A proteína AAD confere resistência aos antibióticos espectinomicina e estreptomomicina, funcionando como marcador para a seleção de células bacterianas transformadas. Somente os genes *cry1Ac* e *nptII* são expressos no algodão GM. O gene *aad* é controlado por um promotor bacteriano e a proteína AAD não é detectada no tecido do Algodão Bollgard® evento 531.

Resumo dos elementos genéticos introduzidos

Genes: *cry1Ac*, Cry1Ac deltaendotoxina (*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk)); *neo*, neomicina fosfotransferase II (*E. coli* K12); e *aad*, 3''(9)-O-aminoglicosídeo adenililtransferase.

Promotores: E35S, nopalina sintase (*nos*) de *A. tumefaciens* e promotor bacteriano.

Finalizador: 3' poli A da subunidade alfa do gene beta-conglicinina da soja.

Características do algodão

Centro de origem: Meso-americana (Peru, Equador e Bolívia).

Modo de reprodução: Geralmente autógama, com freqüente alogamia, especialmente na presença de insetos polinizadores, como abe-

lhas. Espécies sexualmente compatíveis incluem *G. hirsutum*, *G. barbadense* e *G. tomentosum*.

Características do organismo doador

As características de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* foram anteriormente descritas.

Considerações sobre segurança ambiental

Testes em campo

O Algodão Bollgard® evento 531 vem sendo testado em campo desde 1992 e foi aprovado para produção comercial nos Estados Unidos em 1996. Posteriormente, o produto passou a ser comercializado na Argentina, na Austrália, na África do Sul, na China, na Índia, no México e na Indonésia. No Brasil, testes em campo foram iniciados durante as safras de 1997/1998 e de 1999/2000, com a autorização da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Com exceção da tolerância a insetos-alvo, que resulta da expressão do gene *cry1Ac*, os testes em campo e a experiência em produção comercial indicam que as características fenotípicas e agrônomicas do Algodão Bollgard® evento 531 são equivalentes às de variedades de algodão convencional em comércio.

Estudos foram realizados em laboratório e em campo para a caracterização do Algodão Bollgard® evento 531 e para a determinação da segurança ambiental e alimentar do produto. Os estudos basearam-se no conceito de “familiaridade” acoplado ao conceito de “equivalência substancial” e visaram determinar se a nova planta e seus produtos apresentam um risco novo ou maior do que variedades convencionais para o meio ambiente ou para consumo como alimento para seres humanos e, ou, animais. Os estudos partiram dos conhecimentos sobre a biologia da planta e as práticas agrícolas utilizadas no cultivo do algodão, sobre a origem dos genes inseridos, a função e a segurança das novas proteínas produzidas e sobre a composição nutricional da planta, entre outros aspectos.

Os estudos de caracterização determinaram o DNA inserido, o nível de expressão dos genes inseridos, o fenótipo e o desempenho agrônomo da planta. Os parâmetros analisados não indicam nenhum efeito não-intencional resultante da modificação genética, a qual é herdada pelas gerações subsequentes, sem alterações.

A avaliação da segurança ambiental do Algodão Bollgard® evento 531 mostrou a segurança da planta e das novas proteínas produzidas para organismos-não-alvo e para o meio ambiente. A proteína Cry1Ac, produzida no Algodão Bollgard® evento 531, vem sendo utilizada com segurança como princípio ativo de formulações microbianas já comercializadas no Brasil e em vários países há mais de 40 anos. A proteína é segura para a fauna e para organismos benéficos, degradando-se rapidamente no solo. Não foram encontrados efeitos adversos desta variedade GM ou das proteínas Cry1Ac e NPTII sobre o meio ambiente. O potencial de cruzamento com espécies silvestres presentes no Brasil é possível pela existência de organismos compatíveis, mas improvável nas áreas de plantio comercial. A capacidade invasiva dos genes *cry1Ac* e *nptII* por meio de transferência gênica para organismos não relacionados praticamente inexistente.

Por meio dos estudos de avaliação da segurança alimentar do Algodão Bollgard® evento 531, demonstrou-se que as novas proteínas produzidas pela planta são seguras para a alimentação humana e para a produção de ração animal. As proteínas Cry1Ac e NPTII encontram-se no caroço do Algodão Bollgard® evento 531, mas, após o processamento das fibras e do caroço, elas não são detectadas. Entretanto, caso fossem consumidas, essas proteínas não despertariam nenhuma preocupação com a saúde humana e animal. O modo de ação delas, a especificidade, o histórico de uso e exposição, a rápida degradação no sistema digestivo, a ausência de similaridades com proteínas tóxicas ou alérgicas, assim como a ausência de toxicidade oral aguda em camundongos, mostraram a sua segurança para o consumo humano e animal. A composição, o valor nutricional e a salubridade das frações da planta utilizada como

alimento e, ou, ração são equivalentes às frações das variedades comerciais de algodão convencional. Na verificação da equivalência nutricional e quanto à composicional do Algodão Bollgard® evento 531 em relação às variedades convencionais, utilizou-se a comparação de 67 componentes do caroço de algodão e do óleo. As análises incluíram a determinação dos níveis de proteína, gordura, umidade, calorias, minerais, aminoácidos, ácidos graxos ciclopropenóides e gossipol.

Em adição aos estudos composicionais, a salubridade do caroço do Algodão Bollgard® evento 531 foi demonstrada por meio de estudos de alimentação com ratos, vacas leiteiras, peixes e aves submetidos a dietas que continham o caroço do algodão geneticamente modificado e o do algodão convencional. Esses estudos não mostraram nenhuma diferença significativa entre os animais alimentados com o caroço do algodão GM e os alimentados com o caroço de algodão convencional.

Os principais benefícios observados com o cultivo comercial desta variedade GM, desde a sua comercialização inicial nos EUA e em outros países, são: melhor controle de pragas-alvo, redução do uso de inseticidas, aumento no rendimento, redução dos custos de produção, melhor rentabilidade e menor risco para o produtor. A introdução dessa tecnologia nos Estados Unidos entre 1996 e 1999 levou à redução no uso de ingredientes ativos de inseticidas de aproximadamente 1,2 milhão de quilos. Os produtores obtiveram aumento de 118 milhões de quilos de algodão na produção anual, o que resultou em aproximadamente US\$99 milhões adicionais na receita líquida em 1999. A redução do uso de inseticidas também está associada a uma série de benefícios secundários, como o aumento das populações de insetos benéficos e de animais silvestres, a diminuição da lixiviação potencial de inseticidas e maior segurança para os funcionários da propriedade, devido à menor exposição potencial. Benefícios semelhantes vêm sendo observados em outros países onde essa tecnologia já foi aprovada para uso comercial.

Simulações indicam que os benefícios potenciais que esta tecnologia

trará para o Brasil também podem ser significativos. Caso tivesse sido adotada em 50% da área total cultivada do Brasil em 2000/2001, estima-se que tivesse havido redução de aproximadamente 1 milhão de litros de inseticida e significativa elevação na produtividade.

Outras considerações

O Algodão Bollgard® evento 531 oferecerá aos produtores brasileiros uma nova opção para o manejo da cultura. Os resultados dos estudos de caracterização e de segurança ambiental e alimentar claramente indicam que este Algodão GM é equivalente e tão seguro para o meio ambiente, os organismos-não-alvo, no uso em ração animal e no consumo humano, quanto as variedades convencionais atualmente disponíveis no mercado. As experiências bem-sucedidas com o uso do Algodão Bollgard® evento 531 desde o início de sua comercialização, em 1996, nos EUA, e posteriormente em outros países, confirmam a segurança do produto. Sua utilização em plantios comerciais reduz drasticamente a aplicação de pesticidas convencionais nas lavouras e agrega benefícios econômicos, ambientais, bem como à saúde humana. A adoção dessa tecnologia trará maior competitividade global para a indústria algodoeira do Brasil e agregará benefícios diretos e indiretos semelhantes para o produtor e para o meio ambiente.

Milho tolerante ao glifosato – Evento NK603

A Monsanto desenvolveu o milho NK603 com a característica de tolerância ao glifosato, que é o ingrediente ativo dos herbicidas Roundup®. O NK603 produz proteínas CP4 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (CP4 EPSPS) tolerantes ao glifosato. O controle de plantas daninhas que é realizado pelo glifosato ocorre pela inibição da enzima EPSPS, produzida naturalmente pela planta. Essa enzima catalisa uma etapa crítica na via metabólica do ácido chiquímico para a biossíntese de aminoácidos aromáticos em plantas e microrganismos. As proteínas CP4 EPSPS possuem baixa

afinidade com o glifosato, se comparada com a proteína EPSPS selvagem. Assim, quando o milho NK603, que produz as proteínas CP4 EPSPS, é tratado com glifosato, as plantas continuam se desenvolvendo normalmente. A ação contínua da enzima CP4 EPSPS tolerante ao glifosato catalisa a síntese dos aminoácidos aromáticos necessários ao desenvolvimento normal das plantas. A via biossintética de aminoácidos aromáticos não é encontrada em animais, o que explica a atividade seletiva desse herbicida em plantas, contribuindo para a baixa toxicidade a mamíferos. Dois cassetes para expressão do gene *cp4 epsps* foram introduzidos no genoma do milho por meio de um único inserto, produzindo o milho NK603. O gene *cp4 epsps* é derivado de uma bactéria comum de solo, a *Agrobacterium* sp. cepa CP4, que codifica para a produção da proteína EPSPS, tolerante ao glifosato.

Resumo dos elementos genéticos introduzidos

Gene: *cp4 epsps* (5-enolpiruvil chiquimato-3-fosfato sintase) de *Agrobacterium* sp. cepa CP4.

Promotores: Intron P-ract1/ract1 contendo actina 1 de arroz, CaMV 35S e HSP70 do milho.

Finalizador: *nos 3'*

Características do milho e modo de reprodução

Detalhes sobre as características desta gramínea, bem como seu modo de reprodução, foram anteriormente descritos quando o evento MON810 foi abordado, neste capítulo.

Considerações sobre segurança ambiental

Testes em campo

A segurança ambiental do milho NK603 mostrou-se ser equivalente à do milho convencional, o que foi confirmado em diversos estudos, realizados inclusive no Brasil. A estabilidade genética da característica de tolerância ao glifosato, a ausência de efeitos em organismos-não-alvo, o baixo potencial de transferência gênica, a au-

sência de características que façam com que se torne uma planta daninha, o desenvolvimento e o desempenho agrônomico são fatores que comprovam essa segurança ambiental. Adicionalmente, as observações da segurança do produto utilizado como alimento/ração, desde a liberação comercial do milho NK603 nos Estados Unidos em 2000, e no Canadá e outros países, em 2001, substanciam as afirmativas acima.

A segurança alimentar do milho NK603 foi estabelecida com base em avaliações da atividade da proteína CP4 EPSPS e sua homologia com as proteínas EPSPS presentes em amplo espectro de plantas utilizadas como alimento. A baixa exposição a CP4 EPSPS na dieta, ou seja, baixa concentração no grão e na forragem; a rápida digestibilidade da proteína CP4 EPSPS; e a ausência de toxicidade ou alergenicidade das proteínas EPSPS em geral foram verificadas por meio de estudos com as proteínas CP4 EPSPS produzidas em plantas. A equivalência entre o milho NK603 e o convencional foi demonstrada por meio de análises dos nutrientes-chave, incluindo proteínas, lipídeos, carboidratos, umidade, aminoácidos, ácidos graxos e minerais, em estudos realizados em vários ambientes agrícolas, por exemplo no Brasil. A equivalência nutricional entre a variedade NK603 e o milho convencional foi confirmada mediante avaliação do desempenho alimentar em estudos com frangos de corte, ratos, vacas leiteiras, suínos e gado de corte.

No Brasil, os resultados de estudos de eficácia agrônomico e tolerância, assim como das avaliações agrônomicas, de descritores morfológicos, de expressão da proteína CP4 EPSPS e de composição (bromatologia) mostraram que o NK603 é equivalente e tão seguro quanto o milho convencional em termos de biossegurança alimentar e ambiental.

Outras considerações

O milho NK603 tolerante ao glifosato, além de ser tão seguro quanto o convencional, fornece aos agricultores inúmeros benefícios, que incluem: sistema efetivo, flexível e simples para o controle de plantas daninhas na cultura, com potencial para aumento

de produtividade; redução de custos, pela diminuição do uso de produtos herbicidas e do número de aplicações necessárias para o controle efetivo das plantas daninhas; adequação e encorajamento para a adoção de sistemas conservacionistas de cultivo, como o plantio direto; melhoria da qualidade da água em fontes vulneráveis, por reduzir a aplicação de herbicidas que são lixiviados; segurança alimentar e ambiental equivalente à do milho convencional, sendo tão nutritivo quanto este, o que foi demonstrado por meio de diversos estudos específicos com a proteína CP4 EPSPS, análises dos nutrientes-chave, da equivalência nutricional, bem como avaliações ambientais.

Milho resistente a lagartas e tolerante a herbicida – Evento Bt11

As lagartas, pertencentes à família dos Lepidópteros, são as mais sérias pragas da cultura do milho. Além delas, as plantas daninhas, mesmo em baixa densidade, podem reduzir a produtividade do milho de forma significativa. O uso de agroquímicos tem sido o método mais comum de controle das lagartas e das plantas daninhas nesta cultura.

O milho Bt11 foi desenvolvido pela Syngenta com o objetivo de ser resistente às lagartas pela produção de uma proteína inseticida. Esse evento foi obtido com a introdução do gene *Cry1Ab*, à semelhança do milho MON810, apresentado anteriormente. Além da resistência a lagartas, o evento Bt11 apresenta resistência ao glufosinato de amônio, o ingrediente ativo dos herbicidas Liberty, Finale e Basta. O milho Bt11 possui, portanto, o gene *pat*, isolado da bactéria *Streptomyces viridochromogenes*. Esse gene codifica para a produção da enzima fosfinotricina N-acetiltransferase (PAT), a qual confere tolerância ao glufosinato. A enzima PAT do milho Bt11 converte L-fosfinotricina (PPT), o ingrediente ativo do glufosinato de amônio, para uma forma inativa. Na ausência de PAT, a aplicação de glufosinato leva à redução na produção do aminoácido glutamina e ao aumento na produção de amônia nos tecidos da planta, resul-

tando em sua morte. A enzima PAT não possui qualquer efeito tóxico.

Resumo dos elementos genéticos introduzidos

Genes: *pat*, que codifica para a produção da enzima fosfinotricina *N*-acetiltransferase (PAT), proveniente de *Streptomyces viridochromogenes*, e *cry1Ab*, que codifica para a produção da proteína delta endotoxina de *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki*

Promotor: CaMV 35S.

Características do milho e modo de reprodução

Detalhes sobre as características desta gramínea, bem como seu modo de reprodução, foram anteriormente descritos quando o evento MON810 foi abordado, neste capítulo.

Características dos organismos doadores

Streptomyces viridochromogenes

É uma bactéria nativa do solo. Suas cadeias de esporos são espiraladas, com coloração azul ou verde, dependendo do pH do meio. *S. viridochromogenes* exibe atividade antimicrobiana devido à estreptomicina produzida pela bactéria. Os dados reportados na literatura indicam sua segurança para o homem, animais e plantas.

Bacillus thuringiensis subsp. Kurstaki

Embora pragas-alvo, tipicamente lagartas, sejam susceptíveis a doses orais da proteína Bt, não há evidências de efeitos tóxicos a mamíferos e pássaros à dose de até 10 µg proteína/g de peso corporal. A proteína Bt tem sido considerada um dos bioinseticidas mais seguros, tanto que é facultado aos agricultores orgânicos o seu uso no controle de pragas.

Considerações sobre segurança ambiental Testes em campo

O milho Bt11 foi testado em vá-

rias linhagens e híbridos de milho em campo a partir de 1992 nos Estados Unidos, no Canadá, na Europa e também no Brasil mais recentemente. Esses experimentos compararam as variedades Bt11 com outras isogênicas convencionais, e detectou-se que características agrônomicas, como vigor vegetativo, dias para a maturação, rendimento de grãos, peso e densidade de grãos, foram similares às das variedades não-transgênicas, indicando que no evento Bt11 não foram alteradas as variedades para outras características além da resistência às pragas-alvo. O nível de expressão da enzima PAT nas variedades Bt11 foi suficientemente elevado para conferir tolerância ao herbicida glufosinato. Todos os dados de campo mostram que o milho Bt11 não possui nenhum potencial risco ao ambiente.

Taxa de fecundação cruzada

Os dados de campo também indicaram que a produção, viabilidade, dispersão do pólen e taxa de fecundação cruzada permanecem inalteradas com a modificação genética Bt11. Dessa forma, o fluxo gênico entre variedades Bt11 e outras variedades convencionais será semelhante ao que naturalmente ocorre entre as cultivadas. No Brasil, onde há poucas espécies aparentadas com o milho, a probabilidade de fluxo de gene para espécies silvestres é extremamente remota. O milho *Zea mays* L. subsp. *mays* é sexualmente compatível com outros membros do gênero *Zea*, e em menor grau com algumas espécies do gênero *Tripsacum*.

Invasibilidade

Os genes *pat* e *cry1Ab*, do evento Bt11, não conferiram nenhuma vantagem competitiva ou maior habilidade de sobrevivência para o milho na natureza ou ao aparecimento de características típicas de espécies invasoras e colonizadoras. A tolerância à fosfinotricina só confere vantagem competitiva às plantas pulverizadas com este herbicida. Adicionalmente, nenhuma vantagem competitiva foi conferida pelo gene *cry1Ab*, além da resistência a lagartas-alvo. Essa resistência não transforma, por si mesma, o

milho em uma espécie daninha ou com capacidade de invadir e colonizar o meio ambiente.

Todos os dados experimentais indicam que o milho não sobrevive como uma planta daninha, pois é fraco competidor e possui dispersão de semente muito limitada, portanto não oferece nenhum risco para o meio ambiente.

Efeitos adversos secundários

Foi observado nos ensaios de campo e em laboratório que o milho Bt11 não tem efeito adverso sobre organismos benéficos para os ecossistemas agrícolas. A história de uso registrada na literatura científica mostra que a proteína Bt não é tóxica a humanos, outros vertebrados e insetos benéficos. Estudos de alimentação forçada em laboratório não mostraram nenhum efeito negativo no desenvolvimento de abelhas melíferas, joaninhas e outros insetos-não-alvo. Em estudos com aves alimentadas com milho Bt11 também não se verificou nenhum efeito adverso.

Em resumo, foi determinado que o milho Bt11 não apresenta risco para o meio ambiente e para a saúde humana. Seu efeito é específico para algumas espécies de insetos-praga lepidópteros.

Efeito sobre a biodiversidade

O milho Bt11 não possui nenhuma característica fenotípica nova que fomentaria a extensão de seu plantio além das regiões geográficas que atualmente cultivam esta espécie. Como não há nenhum parente silvestre do milho no Brasil e como esta não é uma espécie invasiva ou colonizadora, a característica resistência a lagartas seguramente não será transferida a outras espécies, modificando a biodiversidade nativa.

Outras considerações

Para a sustentabilidade de uso da toxina Bt expressa no milho e nas formulações comerciais desta mesma toxina, recomenda-se a implementação de Programas de Manejo da Resistência (PRM). Esses programas são obrigatórios nos países que já cultivam

variedades Bt11 e requerem que produtores plantem certa área com variedades convencionais, faixas de escape ou refúgio, para reduzir a pressão de seleção de insetos resistentes à proteína Bt. Detalhes específicos e exigências dos programas PMR são discutidos no capítulo 10 deste livro.

É pouco provável que o milho Bt11 resulte na eliminação do uso de inseticidas químicos que são tradicionalmente aplicados nas lavouras de milho, pois estas variedades são resistentes apenas a algumas das pragas desta espécie. Variedades de milho Bt11 podem, entretanto, contribuir para a preservação do meio ambiente ao oferecer um método alternativo para o controle das lagartas do milho, reduzindo o uso de lagartocidas e os potenciais efeitos adversos resultantes desses inseticidas em insetos benéficos, contribuindo para a segurança do trabalhador e evitando a contaminação da água e do solo.

Milho tolerante a herbicida – Evento T 25

O milho LibertyLink foi desenvolvido pela AgrEvo (hoje Bayer Crop Science) com o objetivo de possibilitar o uso seletivo dos herbicidas cujo ingrediente ativo é o glufosinato de amônio, para o manejo de plantas daninhas. O gene *pat*, que confere este atributo foi clonado de um segmento específico do genoma da bactéria de solo *Streptomyces viridochromogenes* e codifica para a produção da enzima fosfinotricina-N-acetiltransferase (PAT). Este produto encontra-se aprovado na Europa, no Japão, nos Estados Unidos, na Argentina, e sua comercialização ocorre nestes e em outros países.

Resumo dos elementos genéticos introduzidos

Genes: *pat*, que codifica para a resistência ao herbicida fosfinotricina N-acetiltransferase (PAT), e *bla* truncado, que não codifica para a produção de b-lactamase. Cultivos de milho derivado do Evento T25 podem ter suas plantas daninhas manejadas com o herbicida biodegradável glufosinato de amônio, sem entretanto restringir a opção de uso de qualquer outro tradi-

cionalmente utilizado.

Promotor: CaMV 35S

Características do milho e modo de produção

Detalhes sobre as características desta gramínea, bem como seu modo de reprodução, foram anteriormente descritos quando o evento MON810 foi abordado neste capítulo.

Características do organismo doador

Streptomyces viridochromogenes: É uma bactéria nativa do solo. Suas cadeias de esporos são espiraladas, com coloração azul ou verde, dependendo do pH do meio. *S. viridochromogenes* exibe atividade antimicrobiana, devido à estreptomicina produzida pela bactéria. Os dados reportados na literatura indicam sua segurança para o homem, animais e plantas.

Considerações sobre segurança ambiental

Testes em campo

O evento T25 foi estudado em campo a partir de 1992 em diferentes países, inclusive no Brasil. Linhagens e híbridos de milho T25 foram extensivamente avaliados em laboratório, casa de vegetação e no campo. Os experimentos compararam o milho T25 com outros milhos convencionais, quando se determinaram características agrônomicas como produtividade, altura de planta, data de florescimento, suscetibilidade às doenças. Os dados experimentais indicam que o milho T25 é semelhante aos convencionais análogos para todas as características estudadas. Esses dados também mostram que este milho não possui nenhum potencial risco ao ambiente.

Taxa de fecundação cruzada

A produção, viabilidade e dispersão de pólen pelo vento permaneceram inalteradas com a modificação genética T25. Dessa forma, a frequência de intercâmbio gênico entre variedades T25 e outras convencionais deverá ser semelhante à observada

entre variedades não-transgênicas. No Brasil, onde há poucas espécies filogeneticamente relacionadas ao milho no meio ambiente, a probabilidade de fluxo gênico para outras espécies é remota.

Invasibilidade

O gene *pat*, do evento T25, não conferiu nenhuma vantagem competitiva ou maior habilidade de sobrevivência à do milho na natureza ou o aparecimento de características típicas de espécies invasoras e colonizadoras. O fenótipo das plantas T25 permaneceu inalterado para todas as características agrônomicas, exceto para tolerância ao glufosinato de amônio. A tolerância a este herbicida só confere vantagem competitiva às plantas pulverizadas com este produto, portanto dependente de práticas agrônomicas. Essa característica adicionada não transforma, por si mesmo, o milho em uma espécie daninha ou com capacidade de invadir e colonizar o meio ambiente ou áreas não agricultáveis.

Todos os dados experimentais indicam que o milho não sobrevive como uma planta daninha, pois é fraco competidor e possui dispersão de semente muito limitada, portanto não oferece nenhum risco ambiental.

Efeitos adversos secundários

Foi observado nos ensaios de campo e em laboratório que o milho T25 não tem efeito adverso sobre organismos benéficos ou não-alvo nos ecossistemas agrícolas. A enzima PAT, responsável pela tolerância ao glufosinato de amônio, tem atividade enzimática substrato-específica, não possui estabilidade térmica ou proteolítica, típicas de compostos tóxicos, e não afeta o metabolismo da planta. Outras espécies, como soja, arroz, algodão, trigo, cevada, lentilhas, ervilhas, linho e alfafa, foram modificadas para também produzirem a enzima PAT, sem detecção de efeito adverso para o meio ambiente.

Finalmente, após inúmeros testes de biossegurança, foi determinado que o milho T25 não apresenta risco para o meio ambiente nem para a saúde humana.

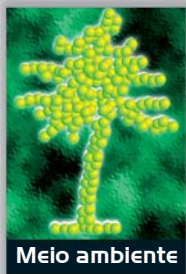
Efeito sobre a biodiversidade

O milho T25 não possui nenhuma característica fenotípica nova que fomentaria a extensão de seu plantio além das regiões geográficas que atualmente cultivam esta espécie. Como não há nenhum parente silvestre do milho no Brasil e como esta não é uma espécie invasiva ou colonizadora, a característica tolerância ao glufosinato de amônia seguramente não será transferida a outras espécies. Mesmo que o fosse, a característica adicionada não se correlaciona com capacidade adaptativa ou invasiva, portanto sem potencial de modificar a biodiversidade nativa no Brasil.

Foi determinado que o impacto global do milho T25 sobre a biodiversidade vegetal é neutro, bem como sobre a biodiversidade microbiana e animal, uma vez que a enzima PAT, produzida pelo milho T25, não altera o metabolismo da planta e não resulta na produção de compostos secundários novos.

Bibliografia

- Betz, F.S., Hammond, B.G. e Fuchs, R.L. 2000. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Regulatory Toxicology* 32: 156-173.
- Borém, A. 2005. Biotecnologia e meio ambiente. Viçosa, MG: UFV. 1. ed. 425 p.
- Borém, A. 2000. Escape gênico: os riscos do escape gênico da soja no Brasil. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento* 10: 101-107.
- Borém, A. 2001. Escape gênico e transgênicos. Rio Branco: Editora Suprema. 204 p.
- Borém, A. 2003. Melhoramento de plantas. Viçosa: Editora UFV. 3. edição 500 p.
- Borém, A. e Ramalho, M.A.P. 2002. Escape gênico e impacto ambiental. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento* 28: 44-47.
- Borém, A. Freire, E.C., Pena, J.C.V. e Barroso, P.A.V. 2003. Considerations about cotton gene escape in Brazil: a review. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 3: 315-332.
- Costa, N.M.B. e Borém, A. 2003. *Biotecnologia e nutrição*. São Paulo: Editora Nobel. 214 p.
- Freire, E.C., Barroso, P.A.V., Pena, J.C.V. e Borém, A. 2002. Fluxo gênico: análise do caso do algodão no Brasil. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento* 29: 104-113.
- Giesy, J.P., Dodson, S. e Solomon, K.R. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 167: 35-120.
- Hammond, B.G., Vicini, J.L., Hartnell, G.F., Naylor, M.W., Knight, C.D., Robinson, E.H., Fuchs, R.L. e Padgett, S.R. 1996. The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. *Journal of Nutrition* 126, 717-727.
- Harrison, L.A., Bailey, M.R., Naylor, M.W., Ream, J.E., Hammond, B.G., Nida, D.L., Burnette, B.L., Nickson, T.E., Mitsky, T.A., Taylor, M.L., Fucsh, R.L. e Padgett, S.R. 1996. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. Strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice. *Journal of Nutrition* 126: 728-740.
- Padgett, S.R., Kolacz, K.H., Delannay, X., Re, D.B., LaVallee, B.J., Tinius, C.N., Rhodes, W.K., Otero, Y.I., Barry, G.F., Eichholtz, D.A., Peschke, V.M., Nida, D.L., Taylor, N.B. e Kishore, G.M. 1995. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Science* 35: 1451-1461.
- Paterniani, E. e Stort, A. C. 1974. Effective maize pollen dispersal in the field. *Euphytica* 23: 129-134.
- Ramalho, M. A. P., Santos, J. B., Pinto, C. A. B. P. 2001. *Genética na agropecuária*. 2.ed. Lavras: UFLA. 472 p.
- Sears, M.K., Hellmich, R.L., Stanley-Horn, D.E., Oberhauser, K.S., Pleasants, J.M, Mattila, H.R., Siegfried, B.D e Dively, G.P. 2001. Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA Early Edition*
- Sediyama, T., Teixeira, R.C. e Reis, M.S. 1999. Melhoramento da soja. In: Borém, A. (ed.) *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa: Editora UFV. p. 488-533.
- Stanley-Horn, D.E, Dively, G.P., Hellmich, R.L., Mattila, H.R., Sears, M.K., Rose, R., Jesse, L.C.H., Losey, J.E., Obrycki, J.J. e Lewis, L. 2001. Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA Early Edition*.
- Taylor, N.B., Fuchs, R.L., MacDonald, J., Shariff, A.R. e Padgett, S.R. 1999. Compositional Analysis of Glyphosate-Tolerant Soybeans Treated with Glyphosate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 4469-4473.
- Teshima, R., Akiyama, H., Okunuki, H., Sakushima, J., Goda, Y., Onodera, H., Sawada, J., Toyoda, M. 2000. Effect of GM and non-GM soybeans on the immune system of BN rats and B10A mice. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 41: 188-193.
- U.S. EPA. 1993. Reregistration Eligibility Decision (RED): Glyphosate. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- WHO. 1994. Glyphosate. World Health Organization (WHO), International Programme of Chemical Safety (IPCS), Geneva. *Environmental Health Criteria No. 159*.
- Williams, G.M., Kroes, R. e Munro, I.C. 2000. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 31: 117-165.
- Windels, P., Taverniers, I., Depicker, A., Van Bockstaele, E. e De Loose, M. 2001. Characterization of the Roundup Ready soybean insert. *Eur. Food Res. Technol.* 213: 107-112.



FERALIDADE VEGETAL E TRANSGENÍESE

Evolução adaptativa das plantas invasoras

Robinson Antonio Pitelli

Professor Titular
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
UNESP, Jaboticabal
pitelli@fcav.unesp.br

Maria do Carmo Morelli Damasceno Pavani

Professor Assistente Doutor
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
UNESP, Jaboticabal
mcaro@fcav.unesp.br

Imagem cedida pelos autores

O desenvolvimento de populações ferais sempre ocorreu ao longo do processo de evolução da civilização humana. São populações animais ou vegetais com algum grau de domesticação, que retornam à vida selvagem, melhor dizendo, para uma condição em que sobrevivem por seus próprios atributos, sem necessidade da tutoria do homem. Há vários exemplos de populações ferais no Brasil como o porco-monteiro, cães e gatos ferais que vivem no Parque Nacional de Brasília e o pássaro bico-de-lacre.

O conceito de população feral pode ser aplicado às espécies vegetais exóticas já domesticadas e introduzidas com fins agrícolas, ornamentais ou para pastagens e que passam a invadir outras áreas com atividades humanas e reservas naturais. O exemplo mais flagrante e recente é o capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), introduzida de Uganda como pastagem bastante rústica e que seria capaz de viabilizar

a pecuária nas regiões de solos mais pobres da zona dos cerrados. A introdução foi bem sucedida, o propósito da introdução foi alcançado e a pecuária cresceu em muitas destas regiões, gerando oportunidades e riqueza. Sua dispersão ocorreu rapidamente, parte pelo homem que expandiu suas áreas de plantio com esta pastagem e parte por agentes naturais de dispersão, incluindo animais. Esta planta é típica do estágio clímax de pradaria na África e possui uma série de formas de interferência sobre o crescimento de plantas de porte arbóreo e arbustivo. Assim, hoje constitui uma das principais plantas daninhas das culturas florestais e de pomares de fruteiras tropicais e sub-tropicais e, além disso, constitui importante fator de redução da biodiversidade em reservas de cerrados. Nos Parques Nacionais de Brasília e de Emas, esta gramínea exótica está substituindo a flora rasteira nativa, simplificando as redes alimentares e, em consequência, reduzindo a biodiversidade total do sistema.

No entanto, a grande preocupação com populações vegetais ferais no Brasil apenas foi ressaltada após a possibilidade de introdução de plantas transgênicas. Sempre houve moderada preocupação com a introdução de algumas plantas exóticas, principalmente aquelas que sabidamente causam problemas em outros locais como *Striga* spp, *Orobanche* spp, *Rottboellia exaltata*, *Hydrilla verticillata* e outras. Menores preocupações têm sido dedicadas com plantas com propriedades medicinais, agrícolas e ornamentais.

Com a introdução de culturas transgênicas há a preocupação relacionada à formação de população feral dentro da própria espécie geneticamente modificada. Com novos atributos

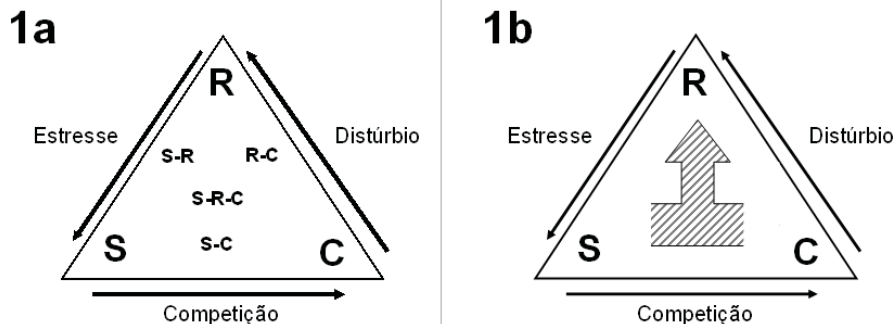


Figura 01 – Modelo esquemático triangular das relações entre as intensidades do distúrbio, estresse e ambiente de competição e as relativas estratégias adaptativas desenvolvidas pelas populações vegetais e as tendências induzidas pela agricultura para formação das plantas infestantes de agroecossistemas. (Adaptado de Grime (1989)).

Tabela 01 - Intensidades de distúrbio e de estresse passíveis de ocorrer na natureza e tipos de estratégia adaptativa desenvolvidas pelas plantas superiores (Grime, 1979)

Intensidade do distúrbio	Intensidade do estresse	
	Baixa	Elevada
Baixa	Competidoras (C)	Tolerantes ao estresse (S)
Elevada	Ruderais (R)	Sem estratégia viável

tos ecofisiológicos recebidos pela transgênese estas plantas poderiam perpetuar suas populações sem intervenção do homem, passando invadir outros agroecossistemas ou áreas de vegetação nativa. A segunda preocupação importante é que com o fluxo gênico das plantas cultivadas para algumas espécies nativas ou invasoras, estas mudassem seu "fitness" tanto para as pressões bióticas como abióticas e tivessem alterações expressivas em suas características de rusticidade, invasividade e de competitividade tornando-se mais agressiva na ocupação dos vários segmentos destinados à colonização vegetal.

Para melhor discussão deste tema é interessante destacar algumas características importantes de populações com grande capacidade de colonização. A grande possibilidade de que uma cultura anual transgênica desenvolva a condição de população feral é a de que adquira características de plantas pioneiras, salvo algumas espécies perenes, especialmente de hábito arbóreo.

Perpetuação das populações vegetais em ambientes sob ação antrópica

No desenvolvimento das plantas pioneiras, as adaptações envolveram características importantes para a perpetuação e expansão das espécies, como (i) elevada produção de diásporos; (ii) capacidade de produção de diásporos em larga faixa de condição ambientais; diásporos dotados de (iia) adaptações para disseminação a curta e a longa distância, (iib) diversos e complexos mecanismos de dormência, (iic) elevada longevidade; (iid) desuniformidade no processo germinativo; e (iie) capacidade de germinação em muitos ambientes. Capacidade de (iii) produção contínua de diásporos pelo maior tempo que as condições permitirem; (iv)

desuniformidade nos processos de florescimento, frutificação, brotação de gemas em tubérculos, bulbos ou rizomas; (v) rápido crescimento vegetativo e florescimento; (vi) produção de estruturas reprodutivas diversas; (vii) plantas auto-compatíveis, mas não completamente autógamas ou apomíticas; (viii) quando alógama, utilização de agentes de polinização inespecíficos ou o vento; (ix) utilização de processos especiais de competição pela sobrevivência como alelopatia, hábito trepador e outros. Se perene, (x) vigorosa reprodução vegetativa ou regeneração de fragmentos e (xi) fragilidade na região do colo, de modo não poder ser arrancada totalmente do solo. Todas estas características conferem alta capacidade de sobrevivência destas plantas em muitos ambientes, especialmente naqueles com poucas limitações de recursos e elevado distúrbio.

Plantas com grande parte destas características são pioneiras importantes, tem grande capacidade de colonização de áreas onde, por algum motivo, a vegetação original foi parcial ou totalmente deslocada e estão incluídas entre as plantas invasoras, especialmente as de agroecossistemas. É importante ressaltar que a própria prática da agricultura colaborou para o aprimoramento desta característica de invasividade de algumas populações vegetais.

A agricultura evoluiu sempre visando estabelecer condições ótimas ao crescimento vegetal para assegurar excelente desempenho das plantas cultivadas em seu desenvolvimento e produtividade. Assim foram desenvolvidos sistemas de semeadura ou plantio que assegurasse uma distribuição equitativa da luz, água e nutrientes para as plantas cultivadas, épocas de semeadura que assegurassem boa disponibilidade de luz e água nas etapas críticas do crescimento das plantas e outras. Todas estas práticas também

favoreceram sobremaneira as plantas pioneiras que passaram a conviver e se adaptar às práticas impostas pelo homem ajustando, dentre outros atributos eco-fisiológicos, o fluxo de germinação e emergência dos diásporos, o comprimento do ciclo de desenvolvimento e as formas de dispersão dos propágulos. Assim, com os anos de

agricultura, as plantas pioneiras alteraram alguns atributos permitindo que suas populações fossem paulatinamente se especializando na colonização de agroecossistemas. Assim, a maioria das plantas daninhas importantes dos cultivos não existia em sua forma atual antes do advento da agricultura (Fernandez, 1974). Como na natureza reconhece-se o desenvolvimento de ecotipos fotoperiódicos (Olmsted, 1944) e ecotipos edáficos (Wilkins, 1960) é razoável considerar que as plantas invasoras representam ecotipos agrícolas, com um caráter regional ou limitado a um ou vários cultivos (Fernandez, 1974).

A evolução da estratégia de colonização das plantas

Grime (1979) considera que são dois os fatores externos que determinam a estratégia adaptativa das plantas: o estresse e o distúrbio. O estresse se refere aos fenômenos que limitam o desempenho fotossintético e de crescimento das plantas como as limitações de luz, água e nutrientes essenciais e disponibilidade de espaço para o crescimento das raízes. O distúrbio se refere à destruição parcial ou total da vegetação e pode ser resultado de pressões bióticas como a predação e parasitismo ou abióticas não periódicas como tempestades de vento, fogo, erosão do solo. O mais destacado distúrbio dos tempos modernos é causado pelas atividades do homem no preparo do solo, queima de restos culturais e outras relacionadas às suas atividades agrícolas.

As intensidades destes dois fatores externos podem variar no ambiente, desde brandas até elevadas, provendo situações diversas para adaptação das plantas superiores. Na Tabela 01 estão apresentadas quatro combinações de situações extremas de variação destes fatores.

A primeira condição a ser consi-

derada constitui ambiente com elevadas intensidades de distúrbio e de estresse. Nesta situação, Grime (1989) considera que não há possibilidade de uma estratégia de colonização que seja viável para ser desenvolvida pelas plantas superiores, pois com distúrbio freqüentes as plantas deveriam ter rápido ciclo para reposição do estoque de indivíduos, o que é inviabilizado pelas restrições do meio. Nesta condição, há colonização por organismos inferiores.

Em situações de elevado estresse e baixo distúrbio a estratégia desenvolvida pelas populações é chamada de "tolerância ao estresse" e as plantas são designadas por estrategista **S** ou tolerantes ao estresse. Estas plantas têm que apresentar características adaptativas adequadas para regulação do crescimento em ambientes com muitas restrições ao desenvolvimento vegetal. A plasticidade fenotípica e as adaptações especiais para sobrepujar as limitações impostas pelo meio são as principais características desenvolvidas por plantas estrategistas **S**.

Em situações de elevado distúrbio e de baixo estresse, as plantas desenvolvem característica adaptativa chamada **R** ou ruderal. As plantas têm que sobreviver aos freqüentes distúrbios em um ambiente com boa disponibilidade de recursos que podem propiciar rápido crescimento e desenvolvimento dos indivíduos. A principal estratégia desenvolvida por estas plantas é um eficiente e rápido sistema reprodutivo e a formação de denso e persistente banco de diásporos que propicia uma re-colonização rápida e consistente do solo tão logo o distúrbio é terminado.

Em situações de baixos distúrbio e estresse, as plantas apresentam mecanismo adaptativo denominado por estrategista **C** ou planta competidora. Por competição se deve entender a tendência de plantas vizinhas de utilizar os mesmos recursos que são limitados no ambiente de colonização. Estas plantas maximizam a locação de recursos no crescimento vegetativo e apresentam arquitetura que as capacitam a ocupar mais eficientemente os recursos do meio e se estabelecer de forma consistente.

Considerando a evolução de uma comunidade vegetal, as ruderais seriam as plantas com características pioneiras, as quais seriam substituídas pelas competidoras determinando o estágio intermediário da sucessão eco-

lógica. As competidoras, depois de estabelecidas, seriam suplantadas pelas plantas tolerantes ao estresse, as quais de forma lenta e contínua cresceriam sob as limitações impostas pelas estrategistas **C** e se estabeleceriam no estágio considerado clímax.

Grime ainda dispôs as estratégias adaptativas em um modelo triangular visando descrever as várias situações intermediárias de estresse, distúrbio e competição (Figura 01a). Este modelo triangular será extremamente útil para o entendimento dos efeitos da agricultura no mecanismo evolutivo das plantas infestantes de agroecossistemas.

As práticas agrícolas sempre buscavam preparar o ambiente da lavoura para favorecer o crescimento das plantas cultivadas. As práticas correntes eram o preparo do solo com aração, gradagem, cultivos freqüentes; a queima de restos culturais, a correção da acidez, a imobilização de elementos tóxicos como o alumínio e o manganês, fertilização com elementos essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas e irrigação. Enfim, uma grande variedade de intervenções que impunham grande freqüência e diversidade de distúrbios e reduziam drasticamente as limitações ao crescimento vegetal. Este tipo de manejo do agroecossistema propiciava as condições ambientais para o desenvolvimento e aprimoramento de plantas com características ruderais (Figura 01b).

Para a sobrevivência neste ambiente altamente perturbados as plantas infestantes de agroecossistemas as plantas desenvolveram certos ajustes eco-fisiológicos aos níveis de indivíduos e de populações, que atualmente são chamados de características de agressividade das plantas daninhas. No entanto, estas características visam garantir a perpetuação das espécies no ambiente agrícola e é condicionada por uma integração entre a capacidade de mudança de cada indivíduo e os processos em longo prazo que, ao nível de população, garante flexibilidade adaptativa da espécie frente a eventuais mudanças do meio ou aos fenômenos que inexoravelmente ocorrem em condições naturais em todo ecossistema através do tempo (Fernandez, 1974).

Uma tendência diferente ocorreu para as plantas cultivadas. Com a domesticação os fatores de agressividade foram sendo eliminados pelo melhoramento genético. Foram

eliminadas: a desuniformidade dos processos germinativo, de florescimento e de frutificação, a facilidade de dispersão dos diásporos, a arquitetura da planta e outras características que acabaram por tornar as plantas domesticadas extremamente dependentes a tutoria humana.

Há grande preocupação de que a hibridação introgressiva de plantas infestantes com plantas transgênicas possa gerar plantas daninhas altamente problemáticas na agricultura. A possibilidade de produção de híbridos existe, mas depende de uma série de fatores. Além disso, as variações dos ajustes eco-fisiológicos, rusticidades e agressividades destes híbridos dependerão também de outra série de fatores.

O fluxo gênico entre plantas cultivadas e plantas infestantes depende da presença de compatibilidade genética, da coincidência, pelo menos parcial, do período de florescimento e da presença de agentes comuns de polinização.

Várias plantas cultivadas têm espécies de plantas infestantes relacionadas e que há possibilidade real de fluxo gênico, como a alface (*Lactuca sativa*) e a alface-selvagem (*Lactuca serriola*), a aveia (*Avena sativa*) e a aveia-selvagem (*Avena fatua*), a abóbora (*Cucurbita pepo*) e a abóbora-selvagem (*Cucurbita texana*), dentre outras. Muitas espécies cultivadas têm seus ancestrais selvagens que permaneceram infestando agroecossistemas, como a alfafa e a alfafa-selvagem (*Medicago sativa*), cenoura e cenoura-selvagem (*Daucus carota*), a chicória e chicória-selvagem (*Chicorium intybus*) e o arroz (*Oryza sativa*). O fluxo gênico e formação de híbridos entre estes biótipos e espécies ocorrem e são bem documentados.

Algumas culturas foram bastante estudadas quanto a troca de genes com plantas infestantes aparentadas. A canola (*Brassica napus*), embora apresente elevada taxa de autopolinização, tem a possibilidade de polinizar plantas infestantes da família Brassicaceae. Chèvre et al (1999) observou que a nabiça (*Raphanus raphanistrum*) é a planta infestante com maior taxa de polinização de plantas de canola, quando comparado com outras brássicas infestantes. Em condições de campo, a taxa de hibridação foi bastante baixa, quando se analisou o fluxo da canola para a nabiça. No entanto, quando se avaliou

a situação oposta observaram maior taxa de hibridação da nabiça para a canola. Estes resultados estão de acordo com resultados citados por Baker (1965) em que há a formação de uma linhagem de rabanete selvagem (*R. sativus*) pela introgressão de genes da nabiça (*R. raphanistrum*). Chèvre et al (1997), em experimento anterior, não havia observado a transferência da transgênese da canola para a nabiça. Mais tarde, Chèvre et al (1998) observaram que a transmissão da tolerância ao herbicida variava de acordo com o lócus.

Várias culturas agrícolas são totalmente exóticas no seu ambiente de cultivo, e não têm parentais selvagens. Neste caso, a possibilidade do surgimento de uma planta infestante híbrida é bastante remota. A soja (*Glycine max*) é uma planta exótica no Brasil e, pelos estudos efetuados e pela experiência prática, não têm parentais selvagens em que haja fluxo gênico. É importante destacar que para ocorrência de hibridação introgressiva é necessário que haja a fecundação, ocorra a produção de um híbrido fértil e que este novo genótipo seja capaz de trocar genes com as duas espécies parentais.

A possibilidade de fluxo gênico de plantas cultivadas para plantas infestantes nas condições brasileiras depende bastante da planta cultivada e do local de seu cultivo. Por exemplo, o cultivo de plantas de sorgo (*S. bicolor*) em áreas infestadas com *S. halepense* e *Sorghum arundinaceum* pode proporcionar esta possibilidade. Embora de pequena expressão, a canola é uma cultura desenvolvida em algumas regiões do sul do Brasil, onde há uma série de plantas infestantes aparentadas como o *R. raphanistrum*, *Brassica rapa*, *R. sativus*, *Rapistrum rugosum*, *Sinapsis arvensis* e outras. Há a possibilidade de fluxo gênico neste caso.

Há uma grande preocupação do fluxo gênico de plantas transgênicas de algodão (*Gossypium hirsutum*) para plantas de *Gossypium barbadense* e *Gossypium mustelinum*. É importante destacar que tratam-se plantas silvestres nativas e não são infestantes de agroecossistemas. Por isso, esta preocupação será tratada em outro capítulo desta obra.

As conseqüências do fluxo gênico da planta transgênica no comportamento futuro da planta infestante têm gerado inúmeras preocupações. Estas conseqüências dependem a planta

infestante envolvida, da característica da transformação genética inserida e do ambiente de colonização da planta infestante. No entanto, no caso de fluxo gênico efetivo, o fator mais importante no comportamento e na adoção de medidas mitigatórias é o evento da transformação genética.

Em eventos de transformação genética para tolerância à substâncias xenobióticas, como é caso de herbicidas, o fluxo gênico deverá conferir tolerância da planta infestante aos produtos. Com a utilização sistemática do herbicida na área cultivada, o genótipo geneticamente modificado da planta infestante passará a ser selecionado e, após algumas gerações, sua população não mais será afetada pelo produto. Nesta condição, algumas opções de solução do problema são possíveis: (i) a volta ao sistema antigo de manejo das plantas infestantes empregado antes da introdução da variedade transgênica ou (ii) a introdução de um produto específico para a planta infestante que adquiriu tolerância ao herbicida em combinação com o herbicida utilizado. Esta última opção tem algum grau de dificuldade em ser empregada, pois se a planta infestante é geneticamente tão próxima da planta cultivada a ponto de ocorrer fluxo gênico, o herbicida que afetar seu crescimento ou sobrevivência também poderá afetar a cultura. É claro que existem muitas modalidades de seletividade dos herbicidas que tornam possíveis estas combinações, como é o caso da seletividade toponômica, mas as opções se tornam menos numerosas e de mais difícil aplicação. Para esta modalidade de transformação genética, o fluxo gênico tem maior probabilidade de ser prejudicial à entidade detentora da tecnologia, pois a vantagem econômica da adoção de planta transgênica poderá ser reduzida.

Para plantas geneticamente modificadas para resistência a insetos, o fluxo gênico deverá conferir uma redução da pressão biótica dos inimigos naturais da planta infestante que são sensíveis à toxina codificada pelo gene transferido. Estas plantas, se não houver efeitos pleiotrópicos que afetem seu desempenho eco-fisiológico, deverão ser favorecidas pela menor pressão de predação e, provavelmente, irão assumir maior importância relativa na comunidade infestante. Por outro lado, é importante considerar que as pressões bióticas são estabelecidas

num processo co-evolutivo. Assim, as populações de insetos afetados pela toxina, passarão a sofrer um processo de seleção e, com grande probabilidade, poderão desenvolver tolerância à toxina e voltar a preda a planta infestante. Com a volta da situação regular de pressões bióticas, a importância da planta infestante na comunidade tenderia a voltar à condição original. A rotação de cultura e a manutenção de áreas-refúgio, consideradas com importantes medidas mitigatórias para prevenção do desenvolvimento da resistência dos insetos às plantas transgênicas, teriam efeito pouco expressivo no caso das plantas infestantes que sofreram fluxo gênico, pois estas irão permanecer na área como colonizadoras espontâneas. Embora, o fluxo gênico desta modalidade de transformação genética confira uma tolerância à uma pressão biótica do meio, esta vantagem tende a ser transitória e não é suficiente para produzir uma "super-planta daninha", uma vez que tolerância a pressões bióticas é um dos quesitos necessários para uma planta pioneira bem sucedida, como já foi discutido no item três deste capítulo. Este comportamento deverá ser similar para eventos de resistência à fitopatógenos.

Considerando as plantas geneticamente modificadas para tolerância a fatores abióticos, aparentemente o fluxo gênico para plantas infestantes deverá ter maior importância na história evolutiva posterior da sua população. Para os fatores abióticos não há a processo co-evolutivo que atuaria anulando a vantagem competitiva da planta infestante geneticamente modificada. As pressões contrárias ao novo genótipo poderão ser proporcionadas pela reação da comunidade infestante em relação a uma espécie que passará a ocupar maior espaço e mobilizar mais recursos do meio, uma vez que esta espécie passaria ser menos afetada por fatores limitantes. As reações ao nível de comunidade geralmente são menos drásticas e relevantes que as reações à pressões bióticas diretas. É importante ressaltar que plantas infestantes que adquirirem maior tolerância a estresse hídrico, por exemplo, poderão invadir ambientes ou se desenvolver em épocas do ano em que não ocorriam, alterando as dinâmicas das respectivas comunidades. Este é um caso típico de transformação genética de uma planta infestante que pode alterar permanentemente seu

status, seus limites da distribuição geográfica, suas épocas e habitats de colonização e pode contribuir para aumentar a rusticidade da população. É a situação que mais se aproxima de uma expressiva vantagem de uma população de planta infestante como decorrência do fluxo gênico de uma cultura transgênica..

Outras modalidades de eventos de transformação genética que podem alterar a história evolutiva das plantas infestantes pelo fluxo gênico seriam algumas modificações do comportamento fisiológico da planta, como uniformidade de florescimento, maturação e conservação pós-colheita dos frutos. A resposta da planta para estes tipos de transformação genética normalmente depende de uma série de interações bioquímicas que dificilmente ocorreriam com a mesma expressão numa outra espécie que viesse a receber o gene. Caso o fluxo gênico produzisse o mesmo comportamento, estaria comprometendo o sucesso da população como planta infestante, por proporcionar tendência no sentido contrário à evolução adaptativa comentada nos itens 2 e 3 deste capítulo.

Para outras modalidades de transformação, como a produção de fármacos, o fluxo gênico poderia promover alguns impactos nas populações das plantas infestantes geneticamente modificadas. No entanto, se trataria da inclusão de maior tolerância a pressões bióticas e o comportamento poderá muito próximo ao previsto para plantas resistentes a insetos e fitopatógenos.

Considerações finais

No seu processo evolutivo, as plantas infestantes de agroecossistema desenvolveram características que garantem a perpetuação das espécies no ambiente agrícola e são condicionadas pela integração entre a capacidade de mudança de cada indivíduo e os processos em longo prazo que, ao nível de população, garante flexibilidade adaptativa da espécie frente a eventuais mudanças do meio ou aos fenômenos que ocorrem na natureza no decurso do tempo. Estas características são tão variadas e especializadas que a simples inserção de um gene seria de pouca relevância tanto ao nível individual como da população, por mais efeitos pleiotrópicos que esta inserção possa promover.

Sem dúvida, a inserção de uma nova característica pelo fluxo gênico pode proporcionar vantagens ou desvantagens a uma população de planta infestante. Estas vantagens podem ser transitórias ou permanentes, mas a própria descontinuidade do processo agrícola em decorrência de preços, demanda de mercado, introdução de novas tecnologias e culturas, propicia um grande obstáculo para que estas vantagens possam elevar o status da população na condição de planta infestante de forma permanente.

No caso específico de culturas transgênicas para tolerância aos herbicidas, o uso periódico e prolongado de um herbicida pode promover seleção de flora ou desenvolvimento de resistência em algumas populações de plantas daninhas. Estes dois fenômenos não estão relacionados exclusivamente à utilização de plantas transgênicas. Pitelli (1993) comenta a forte seleção de flora ocorrida nos estados do sul do Brasil pelo uso periódico e continuado da seqüência de culturas de soja, com a utilização dos herbicidas metribuzin e trifluralin, e de milho, com o uso de triazinas para o controle de plantas infestantes na década de 80. Este manejo agrícola proporcionou uma expressiva seleção de *Euphorbia heterophylla* e *Brachiaria plantaginea*.

O desenvolvimento de populações de plantas infestantes resistentes aos herbicidas é um fato recente, mas com grande expressão no Brasil que apresenta populações de *Euphorbia heterophylla*, *Bidens pilosa* e *Sagittaria montevidensis* resistentes aos herbicidas inibidores de ALS, populações de *B. plantaginea* e de *Digitaria ciliaris* resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase, para os quais não há qualquer cultura transgênica no Brasil. A seleção de flora e o desenvolvimento de resistência aos herbicidas tratam-se de respostas das populações e das comunidades infestantes, respectivamente, à pressão de seleção representada pelo herbicida.

Finalmente, a possibilidade de fluxo gênico das plantas infestantes existe, é um risco controlável e com conseqüências diversas dependendo do evento de transformação genética. Medidas mitigatórias podem ser empregadas e as possibilidades do surgimento de uma "super-planta-daninha" é extremamente remota e improvável.

Bibliografia consultada

- Baker, H.G. Characteristics and modes of origin of weeds. In: Baker, H.G. & Stebbins, G.L. (Ed.) **The genetics of colonizing species**. New York, Academic Press, 1965.
- Chèvre, A.M.; Eber, F.; Baranger, A. & Renard, M. Gene flow from transgenic crops. **Nature**, n.389, p.924, 1977.
- Chèvre, A.M.; Eber, F.; Baranger, A.; Hureau, G.; Barret, P.; Picault, H. & Renard, M. Characterization of backcross generations obtained under field conditions from oil seed rape- wild radish F1 interspecific hybrids: an assesment of transgene dispersal. **Theoretical and Applied Genetics**, v.97, p. 90-98, 1988.
- Chèvre, A.M.; Eber, F.; Darmency, H. & Renard, M. Last results concerning gene flow from transgenic oilseed rape to wild radish. International Rapeseed Congress, 10^o, Canberra, 1999. **Proceedings**.
- Fernandez, O. Las malezas y su evolution. **Ciência y Investigation**, p. 49-60, 1979
- Grime, J.p. **Plant strategies and vegetation processes**. New York, John Wiley & Sons, 1979
- Olmsted, C.E. Growth and development in range grasses. IV Photoperiodic responses in twelve geographic strains of oats grama. **Botanical Gazzete**, v.106, p. 46-74, 1944.
- Pitelli, R.A. Weed-soybean interference studies in Brazil. In: Cooping, L.G.; Green, M.B.; Rees, R.T. **Pest Management in Soybean**. London, Elsevier Publishers Ltd., 1991. p.282-289.
- Wilkins, D.A. The measurement and genetical analysis of lead tolerance in *Festuca aestiva*. **Report of the Scotland Plant Breeding Station**, p. 85-98, 1960.

