

AVALIAÇÃO DE RISCOS AMBIENTAIS DE PLANTAS TRANSGÊNICAS

Rubens Onofre Nodari⁽¹⁾ e Miguel Pedro Guerra⁽¹⁾

RESUMO

A precisão e o poder de manipulação genética in vivo aumentaram consideravelmente nestas últimas décadas com o avanço do conhecimento científico na área molecular. Uma das questões que ainda permanecem pendentes quanto aos Organismos Geneticamente Modificados refere-se aos impactos e riscos da liberação em larga escala de plantas transgênicas no meio ambiente. A ameaça à diversidade biológica em consequência da liberação de OGMs decorre das propriedades do transgene no ecossistema ou de sua transferência e expressão em outras espécies. A adição de um novo genótipo numa comunidade de plantas pode proporcionar vários efeitos indesejáveis, como o deslocamento ou a eliminação de espécies não domesticadas, a exposição de espécies a novos patógenos ou agentes tóxicos, a geração de plantas daninhas ou pragas resistentes, a poluição genética, a erosão da diversidade genética e a interrupção da reciclagem de nutrientes e energia. Assim, antes da liberação em larga escala de uma cultivar transgênica, deve ser feito um estudo de impacto ambiental que inclua a avaliação de riscos, passo a passo e caso a caso. A abrangência desta avaliação de risco deverá ser baseada numa matriz, a qual, de um lado, inclua a escala espacial (planta, parcela, lavouras agrícolas e região) e, de outro lado, os efeitos diretos e indiretos na agricultura, ecologia e socioeconomia.

Palavras-chave: OGM, biossegurança, biodiversidade, impacto ambiental.

ASSESSMENT OF ENVIRONMENTAL RISKS OF GENETICALLY MODIFIED PLANTS

ABSTRACT

The precision and the power of genetic manipulation in vivo increased in the last decades as a function of the advancement of the molecular studies. One of the questions not resolved as yet is related with the environmental impacts and risks posed by large-scale cultivation of GMO. The hazards to the biodiversity after legal approval and release are provided by the transgene properties in the ecosystem or its transference and expression in other species. The addition of a new genotype in a plant community can cause several undesirable effects, such as the displacement or elimination of a non domesticated species, species exposure to a new pathogens or toxic agents, generation of super weeds or pests, genetic pollution, genetic erosion, and interruption of the

⁽¹⁾ Prof. Titular – Dep. de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Catarina – C.P. 476, Florianópolis, SC, 88040-900 – Tel: (48) 331 5332 – E-mail: nodari@mbx1.ufsc.br, mpguerra@cqa.ufsc.br

nutrient and energy recycling. Thus, before the release for the large scale cropping of a plant transgenic variety it should be done an environmental impact study, which must includes the risk assessment, step by step and case by case. The scope of the risk assessment should be based on a matrix, being one axis the spatial scale (plant, plot, farm, region) and the other axis the direct and indirect effects on agriculture, ecology, and socio-economy.

Key words: GMO, biosafety, risk assessment, biodiversity, and environment impacts.

INTRODUÇÃO

A liberação de plantas transgênicas para o cultivo e para o consumo humano e animal, ou de seus derivados, atrai cada vez mais a atenção das pessoas, sendo um dos temas que predominam nas discussões científicas, éticas, econômicas e políticas na atualidade. A complexidade das discussões é decorrente de dois fatores principais. Por um lado, nossa base de conhecimentos científicos sobre as implicações e impactos da liberação em larga escala de plantas transgênicas para o cultivo comercial é ainda insuficiente. Por outro lado, a questão das plantas transgênicas enseja uma abordagem inter e multidisciplinar, uma vez que os impactos são diferenciados, os conflitos de interesses são múltiplos e o diálogo apenas recentemente vem-se tornando público.

Há uma série de desafios a ser superada para que se possa usufruir os benefícios decorrentes do uso das biotecnologias modernas. Um deles relaciona-se com o exercício da discussão da implantação e da aceitação destas tecnologias por parte da sociedade, como está ocorrendo em todo o mundo. A pertinência do uso destas tecnologias é dependente de inúmeros fatores, como recursos humanos qualificados, investimentos substanciais no sistema de C&T, domínio do conhecimento científico e da disponibilidade de germoplasma. Requer, sobretudo, enfoques inter e multidisciplinares.

Devido às suas múltiplas abordagens, a análise das implicações não pode ficar restrita apenas aos biólogos moleculares, como será explicitado mais adiante. Há a necessidade de contar com pessoas com conhecimento, sabedoria e experiência em diversas áreas, tais como: ecologia, genética, bioquímica, medicina, nutrição, epidemiologia, entomologia, fitopatologia, botânica, zoologia, bioética, sociologia e economia, entre outras (Nodari & Guerra, 2000a).

Assim, é natural o envolvimento nas discussões de cientistas de diferentes áreas do conhecimento, bem como de consumidores, membros de organizações

não-governamentais, empresários e funcionários públicos de agências regulatórias. É a primeira vez que a sociedade brasileira está tentando fazer um diálogo social a respeito da introdução de produtos oriundos de uma tecnologia. Contudo, o mais importante não é classificar uma tecnologia como boa ou ruim mas, sim, conhecer e controlar suas implicações (Nodari & Guerra, 2000b). Portanto, é sobre estas implicações ambientais, e na agricultura em si, decorrentes da liberação para cultivo em larga escala de plantas transgênicas que trata este artigo.

A avaliação de riscos está associada com a possibilidade de ocorrência de eventos não esperados. Estudos recentes confirmaram a existência de riscos reais, alguns dos quais foram antecipados por vários cientistas de diferentes países. Por isto, a atuação e as decisões da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio – passam a assumir importância fundamental no que tange à definição dos critérios para a análise e liberação de plantas transgênicas.

CONCEITO DE OGM OU TRANSGÊNICO

A transformação genética de plantas consiste na inserção no seu genoma de uma ou mais seqüências, geralmente isoladas de mais de uma espécie, especialmente arrançadas, de forma a garantir a expressão gênica de um ou mais genes de interesse. Neste contexto, o prefixo “trans” era plenamente justificado, pois exprimia a idéia de *além de*, neste caso, significando o rompimento da barreira da espécie. Com o estabelecimento de normas gerais de biossegurança é que se começou a utilizar a expressão Organismo Geneticamente Modificado – OGM.

Do ponto de vista legal, no Brasil, OGM é o organismo cujo material genético (ADN/ARN) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética. A Lei 8.974, de 5/01/95, definiu ainda engenharia genética como a atividade de manipulação de moléculas ADN/ARN recombinantes. Pela legislação brasileira, então, qualquer planta que tenha seqüência(s) de DNA ou RNA engenheiradas (neste texto ADN e DNA serão utilizados como sinônimos, assim como ARN e RNA), deve ser considerada OGM, e está, portanto, submetida aos efeitos da referida lei, mesmo porque ela regulamenta os produtos obtidos pelo processo do DNA recombinante. No presente trabalho, OGM será utilizado como sinônimo de transgênico, embora não haja concordância absoluta a respeito desta sinonímia.

Desta forma, pode-se definir plantas transgênicas (ou OEMS) como plantas que têm inserido em seu genoma, uma ou mais seqüências de DNA manipulado em laboratório por técnicas de DNA recombinante ou engenharia genética. Alternativamente, plantas transgênicas poderiam ser definidas como organismos que tiveram seu material genético alterado por métodos que não aqueles naturais, considerando-se como métodos naturais em plantas o acasalamento sexual e a recombinação genética.

A indução à mutagênese era até então outra maneira utilizada pelo homem para alterar geneticamente uma planta. Neste caso, o genótipo do indivíduo é alterado também diretamente *in vivo*. Um exemplo disto é a exposição de sementes a agentes químicos, como o metil sulfonato, ou físicos, como raios de cobalto ou X, na esperança que alguma modificação ocorra no genótipo previamente escolhido. No sentido conceitual de modificação *in vivo*, a transgenia equivaleria à mutagênese, pois também provoca uma alteração genética num genótipo previamente escolhido. Também há similaridade entre ambas quanto à aleatoriedade no loco onde ocorrerá a modificação, o que impossibilita, com o que se conhece hoje, antecipar o que vai acontecer.

Contudo, existem várias diferenças entre ambas. O processo, e em muitos casos, a natureza da alteração deste dois métodos são diferentes. Enquanto na mutagênese as modificações podem ser de substituição de uma base por outra, deleção ou duplicação de uma ou mais bases e rearranjos diversos, na transgenia as seqüências introduzidas são, em tese, previamente conhecidas e serão adicionadas, no todo ou em parte, ao genoma previamente escolhido.

Esta diferença é crucial, pois na tecnologia está embutida a possibilidade da aplicação de leis de propriedade industrial que permite o patenteamento das seqüências engenheiradas, bem como do processo de transgenia. Esta possibilidade baseia-se naquilo que é adicionado, uma vez que é conhecido, engenheirado e patenteado. O mesmo não ocorreu com a técnica da mutagênese de plantas, embora uma cultivar desenvolvida com esta estratégia possa ser protegida por leis de proteção intelectual. Mutações proporcionaram, além de um prêmio Nobel, concedido a Henry Muller, um defensor do determinismo genético, avanços no conhecimento genético das espécies e algumas variedades para cultivo.

A mutagênese sítio-dirigida, embora permitindo alterar uma seqüência, é feita *in vitro* e não *in vivo*, como a transgenia. Além disso, a mutagênese

sítio-dirigida é limitada em termos de número de bases alteradas, comparativamente à transgenia.

Recentemente, uma outra técnica desenvolvida para terapia genética na espécie humana, a quimeroplastia, foi adaptada para plantas (Beetham et al., 1999; Zhu et al., 1999). Ela possibilita a substituição ou a adição de uma base, em uma seqüência conhecida. Neste caso a diferença em relação à transgenia clássica é a utilização de oligonucleotídeos quiméricos. Seu alcance, contudo, é menor, restringindo-se a alterar ou adicionar uma ou poucas bases.

Com o objetivo de confundir a opinião pública, freqüentemente é dito por cientistas que “o homem vem produzindo transgênicos há milênios com a seleção artificial de plantas”. Como é possível perceber pela definição de OGM, ou transgênico, os agricultores que domesticaram as plantas cultivadas ou os melhoristas não conseguiram alterar um genótipo *in vivo*. Selecionavam sim, as novas combinações (progênesis), oriundas da recombinação genética da geração anterior.

É preciso não esquecer que o processo evolutivo é composto de forças que criam ou amplificam a variabilidade genética e outras que afetam o destino desta variação, como bem destacou Charles Darwin, em sua obra *A origem das espécies* (1859). O efeito conjunto das mutações, aqui incluídas todas as modificações de DNA em condições naturais, e das recombinações entre mutantes, promove o surgimento de uma ampla gama de associações alélicas (Allard, 1960, Fehr, 1987), cujo destino é então dependente das diversas forças evolutivas como seleção, migração e deriva. Os primeiros agricultores selecionaram estas *novas* associações alélicas que melhor se adaptavam a sua maneira de cultivar em cada situação. Assim, não cabe aqui falar de transgenia, mas sim de processo evolutivo.

Melhoramento genético (tradicional) e transgenia

Os agricultores, assim como os melhoristas, utilizam os princípios da diversidade genética quando fazem cruzamentos, e da segregação quando selecionam plantas ou animais considerados superiores. O melhoramento genético, agora denominado de tradicional ou clássico após o surgimento dos transgênicos, pode ser considerado uma forma de biotecnologia, empregada há milênios para diversos propósitos, incluindo a introdução de *novas* variedades

de plantas no ambiente. De fato, o melhoramento envolve a manipulação genética, mas não envolve as técnicas da engenharia genética conforme ficaram conhecidas desde 1973.

Por meio dos métodos de melhoramento, agora chamados de convencionais, *novas* combinações genéticas são geradas por meio de cruzamentos sexuais entre plantas que apresentam as características consideradas como desejadas. Cruzamentos são feitos entre plantas da mesma espécie e, ocasionalmente, quando a variação genética desejada não existe dentro da espécie, genes são transferidos de outras espécies do mesmo gênero e, muito raramente, de gêneros afins, via introgressão. Das metodologias utilizadas pelo melhoramento de plantas, a introgressão de genes, feita por retrocruzamentos sucessivos do F_1 para o genótipo recorrente, é a que mais se assemelha à transgenia, em termos de obtenção de uma *nova* associação alélica. Contudo, existem muitas diferenças entre ambas, que estão explicitadas na Tabela 1.

Na transgenia, seqüências de DNA (genes) podem ser removidas de um organismo, modificadas ou não, ligadas a outras seqüências, incluindo as regulatórias, e inseridas em outros organismos. A fonte destes genes pode ser qualquer organismo vivo (microorganismo, planta, animal) ou vírus. Assim, a Soja RR transgênica resistente ao Round-up, herbicida à base de glifosato, contém material genético de pelo menos quatro diferentes organismos: vírus-do-mosaico-da-couve-flor, petúnia e duas derivadas de *Agrobacterium*.

Uma das principais implicações da transgenia é o rompimento da barreira sexual. Desta forma, a transformação genética possibilita uma alternativa de introdução de genes em plantas. A rigor, isto implica que, teoricamente, qualquer gene, natural ou sintético, pode ser introduzido numa espécie vegetal. Neste cenário, e considerando-se o ponto de vista científico, duas limitações restringem o uso de genes via transgenia: a criatividade e o julgamento inadequado do valor de um gene, desde que há disponibilidade de tecnologias de isolamento e transformação de uma dada espécie. Esta última limitação refere-se a situações em que o pesquisador não consegue perceber ou não tem informações sobre a utilidade de um gene num programa de melhoramento de uma espécie.

Além dessas limitações, já estão sendo adicionadas outras, como: a necessidade de um determinado OGM (comparação com outras alternativas) e a magnitude das implicações que ele possa apresentar se cultivado e ou consumido em larga escala.

O relatório do Governo da Noruega, divulgado em 1999, denominado *Too early maybe too late: ecological risks associated with the use of naked DNA as a biological tool for research, production and therapy*, concluiu que qualquer OGM deve sofrer avaliação de impacto ambiental antes de ser liberado. Este relatório refuta a idéia de que a transgenia em plantas é similar ao melhoramento genético convencional (Traavik, 1999). A transgenia introduz novos genes exóticos e cria recombinações não naturais cujas localizações no genoma do organismo são imprevisíveis, ou seja, a tecnologia ainda não permite o controle do local da inserção. Isto pode resultar em efeitos imprevisíveis no metabolismo, fisiologia e bioquímica do organismo receptor.

Tabela 1. Comparação entre o método do retrocruzamento e a transgenia.

	Retrocruzamento	Transgenia
Objetivo	Alterar ou introduzir uma característica	Alterar ou introduzir uma característica
Natureza	Substituição de alelos	Introdução de seqüências novas (quimera)
Tempo	3 a 6 anos	variável
Tecnologia	Simple	Sofisticada
Pool gênico	Limitado	Ilimitado
Custo	Baixo	Elevado
Resultados	Previsíveis Limitados	Imprevisíveis Ilimitados
Efeitos adversos	Raros Ex.: alelos indesejáveis	Freqüentes Ex.: genes marcadores, promotores e outras seqüências filogeneticamente bem distintas; efeitos pleiotrópicos
Distribuição dos benefícios	Instituições públicas e privadas, pequenos agricultores, consumidores.	Grandes empresas, grandes agricultores, melhoristas.

BIOSSEGURANÇA

Biossegurança, na visão da FAO, significa o uso sadio e sustentável em termos de meio ambiente de produtos biotecnológicos e aplicações para a saúde humana, biodiversidade e sustentabilidade ambiental, como suporte ao aumento da segurança alimentar global. Desta forma, normas adequadas de biossegurança, análise de riscos de produtos biotecnológicos, mecanismos e instrumentos de monitoramento e rastreabilidade são necessários para assegurar que não haverá danos à saúde humana e efeitos danosos ao meio ambiente.

Estes aspectos constituem um grande desafio, pois até o advento dos OGMs nenhuma nova cultivar passava por testes de biossegurança. Embora a engenharia genética transfira somente seqüências curtas de DNA, comparativamente ao genoma de uma variedade, o fenótipo resultante, que inclui a característica transgênica, é possivelmente acompanhado de mudanças nas características e pode produzir um organismo novo em termos de relações ecológicas (Wolfenbarger & Phifer, 2000). Segundo estes autores, os ecossistemas são complexos e nem todo o risco associado com a liberação de um OGM pode ser identificado e considerado. Os testes a serem realizados, os protocolos mais apropriados, os termos de referência, os instrumentos mais adequados ainda são pouco conhecidos e estão sendo discutidos e desenvolvidos.

AVALIAÇÃO DE RISCOS

Risco pode ser definido como uma medida dos efeitos de uma ocorrência em termos de sua probabilidade e da magnitude de suas conseqüências. Em seu texto-depoimento (1999) ao Parlamento Inglês, o Prof. Dr. Chris Glidon, da University of Wales, definiu avaliação de risco ('risk assessment') como sendo o processo com base científica que consiste na identificação e caracterização dos perigos, da avaliação da exposição e da caracterização dos efeitos dos riscos. Por perigo entende-se a propriedade de uma substância ou processo que cause dano. Ou seja, dano é a materialização do perigo. Então, se o potencial de dano é elevado, mesmo uma baixa probabilidade pode significar um risco inaceitável.

A avaliação de segurança deve ser baseada nos riscos potenciais impostos pelo produto obtido (Fontes et al., 1996). Assim, a avaliação deve levar em consideração as características do doador, do recipiente, ou, quando apropriado, do organismo parental. Devem ainda ser avaliadas as características e a

utilização pretendida do OGM, incluindo a escala e a frequência das introduções e considerações ambientais e de saúde.

O manejo dos riscos deve levar em conta as alternativas decorrentes da avaliação de riscos e, se necessário, a seleção e implementação de opções de controle apropriadas, incluindo normas regulatórias. Os danos podem ser diretos ou indiretos, intencionais ou involuntários, imediatos ou não. Segundo o Dr. Chris Glidon, espera-se, ao final do processo, eliminar ou reduzir o risco que possa causar um dano de fato. A diretriz maior é a de que o produto deve ser seguro e sadio para a espécie humana e para o meio ambiente. Portanto, o impacto de um transgene no ambiente e na saúde humana deve ser criteriosamente avaliado (Glidon, 1999).

A avaliação de risco ambiental é a avaliação sistemática dos riscos associados à saúde e à segurança humana e ambiental. Os procedimentos devem incluir a identificação dos perigos e a estimativa de suas magnitudes e frequências de ocorrência, bem como das alternativas ao OGM. Como os riscos associados a uma variedade transgênica dependem das interações complexas decorrentes da modificação genética, da história natural dos organismos envolvidos e das propriedades do ecossistema no qual o OGM é liberado (Peterson et al., 2000; Wolfenbarger & Phifer, 2000), estes procedimentos devem ser aplicados em escala ampla, em termos espaciais e sociais (ver Figura 1).

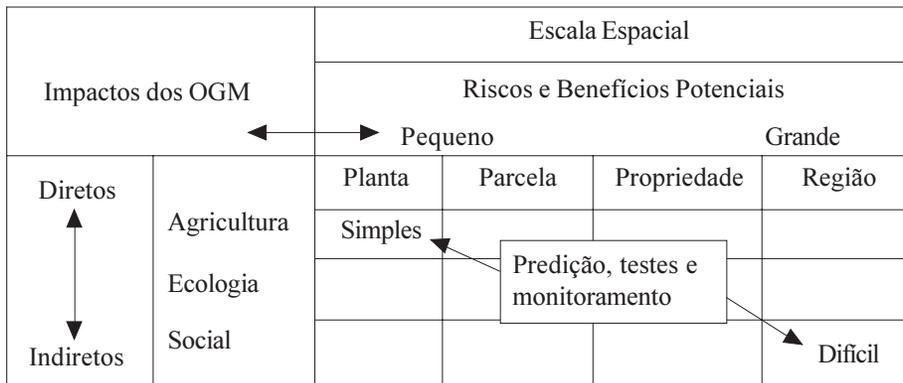


Figura 1. Efeitos diretos e indiretos de variedades transgênicas (OGM) e as interações complexas que fazem parte da avaliação de risco ambiental (Adaptado de Peterson et al., 2000).

O conhecimento dos riscos também é indispensável porque possibilita a elaboração de planos de seu gerenciamento. O manejo dos riscos é um processo que envolve a análise das alternativas decorrentes dos resultados alcançados com a avaliação destes. Quando requerido, o manejo seleciona e implementa opções apropriadas de controle, incluindo normas reguladoras (Glidon, 1999). Assim, o manejo de riscos deve também fazer parte do estudo de impacto ambiental para fins de licenciamento de atividades com plantas transgênicas.

Na ausência de efeitos pleiotrópicos, os efeitos diretos do transgene numa planta seriam razoavelmente previsíveis. Quando os biólogos moleculares dizem que foram feitos estudos e não foram detectados efeitos adversos, eles normalmente estão se referindo à primeira das várias células possíveis de serem analisadas (Figura 1). Existem também estudos de parcela (segunda célula da Figura 1), associados predominantemente à performance agrônômica do OGM, e que, a rigor, não podem ser tomados como estudos de impactos e riscos ambientais. Não há estudos científicos relacionados a todas as células relevantes desta matriz. Existem sim, relatos científicos de estudos isolados com algumas espécies e que serão apresentados mais adiante.

A complexidade da avaliação é decorrente do fato de que os riscos e os benefícios associados a uma cultura específica mudam e tornam-se mais difíceis de serem avaliados na medida que a área de cultivo aumenta e outros aspectos são considerados. Impactos indiretos nos ecossistemas são muito mais difíceis de investigar, monitorar e, portanto, prever (Peterson et al., 2000). Segundo estes autores, esta é uma das origens da controvérsia estabelecida entre os ambientalistas e os biólogos moleculares. Enquanto os primeiros referem-se aos impactos sociais e nos ecossistemas, os últimos fazem menção aos testes feitos com uma ou poucas plantas em laboratório ou em casa de vegetação.

A complexidade também é decorrente do fato de que inúmeros trabalhos científicos demonstraram que o padrão de variação fenotípica, sua base genética e a seleção natural sobre eles variam em diferentes condições ambientais (Susuki et al., 1986; Ackerly et al., 2000). O problema da biologia é que, em contraste com outros ramos do mundo físico, nos quais poucas grandes forças dominam os fenômenos, o organismo vivo é resultante de um grande número de caminhos fracos causais determinantes, fazendo com que seja extremamente difícil proporcionar explicações completas (Lewontin, 2000). Em seu recente texto, o autor afirma ainda que um organismo vivo num momento qualquer de sua

vida é a consequência única da história do desenvolvimento que resulta de interações e determinações de forças internas e externas.

Devido aos contextos históricos, políticos e econômicos da biotecnologia seria apropriado questionar o que vem sendo praticado em termos de avaliação de risco. As agências regulatórias não têm utilizado critérios ecologicamente compreensíveis para avaliar os riscos de organismos transgênicos (Peterson et al., 2000). Uma revisão dos pedidos de liberação para a comercialização de OGM na Comunidade Européia revelou claramente que a avaliação de risco ambiental não foi feita ou interpretada adequadamente pelos Estados Membros (Glidon, 1999). A recomendação de bastidores destes experimentos de campo sugere que está sendo aplicado o ditado popular “não olhe, não encontre”. Tampouco esta avaliação de riscos e dos impactos ambientais foi adequadamente feita no Brasil com os OGMs cuja liberação para cultivo foi solicitada por empresas a CTNBio.

Equivalência substancial

“Nós comemos quilos de DNA todo dia, na carne. E você não vê ninguém mugindo por aí”. Esta frase de um cientista brasileiro (Folha de São Paulo, 4 ago. 2000) retrata, na verdade, a tentativa de desconsiderar a necessidade de estudos, pois os humanos já utilizam alimentos de organismos domesticados. Também é uma tentativa de desqualificar a necessidade de avaliação de risco. Este comportamento é bastante coerente com a visão da indústria e de parte significativa das autoridades governamentais, que vêm nesta ‘equivalência substancial’ uma estratégia de análise segura, mas que se configura como rápida e sem sustentação científica.

As plantas transgênicas, aprovadas para o cultivo comercial nos Estados Unidos, tiveram sua liberação baseada no princípio da equivalência substancial. Assim, a soja RR foi considerada “equivalente” a sua antecedente natural, a soja convencional, porque não difere dela nos aspectos cor, textura, teor de óleo, composição e teor de aminoácidos essenciais e de nenhuma outra qualidade bioquímica. Desta forma, não foram submetidas à rotulagem pela agência americana encarregada de sua liberação, a Food and Drug Administration – FDA.

Este conceito de equivalência substancial tem sido alvo de críticas, entre outras, porque a falta de critérios mais rigorosos pode ser útil à indústria, mas é inaceitável do ponto de vista do consumidor e da saúde pública (Millstone et al., 1999). Há dificuldades práticas no conceito de equivalência entre plantas engenheiradas e naturais, ou obtidas por técnicas convencionais de melhoramento genético. Equivalência significa dispor de igual valor ou outro atributo, normalmente expresso em unidades ou parâmetros: um grama do produto Y equivale a X calorias. Equivalência se refere sempre a quantidade ou algo mensurável a que corresponde um sentido tecnicamente comparável (Momma, 1999). A rigor, em termos de genoma, elas não são equivalentes nem iguais. Só seriam iguais se uma fosse originária da outra por multiplicação vegetativa ou micropropagação. A construção genética inserida na planta contém elementos bastante distintos daqueles naturais encontrados nas plantas, que proporcionam novos produtos gênicos e que podem desencadear efeitos pleiotrópicos substanciais, para que sejam considerados desprezíveis.

Esta estratégia baseada na equivalência substancial foi introduzida na década passada para evitar que as indústrias tivessem custos maiores com testes de longa duração, como na área farmacológica. Quando se utiliza a equivalência substancial, nenhum teste é requerido para excluir a presença de toxinas prejudiciais, carcinogênicas e mutagênicas. Este princípio da equivalência substancial é equivocado, carece de base científica e deveria ser abandonado em favor de testes biológicos, toxicológicos e imunológicos mais aprofundados e eficazes (Guerra & Nodari, 1999). Com base nesta equivalência, o FDA exige apenas testes de curta duração com animais e testes bioquímicos para avaliar, entre outros, a alergenicidade. Esta insuficiência de dados, que não consegue subsidiar cientificamente a análise da segurança alimentar, está sendo questionada não só pela população em geral, mas também por grande parte da comunidade científica e agora (outubro de 2000) pelos governos, como é o caso da Itália.

Como o transgene é, na verdade, uma nova característica – em geral desconhecida – introduzida num genoma cultivado que vem sendo lapidado pelas seleções natural e artificial, ainda não há experiência acumulada, nem conhecimento suficiente para tratar adequadamente este assunto. Contudo, a comunidade científica e os agricultores já têm experiência acumulada com os agroquímicos ou agrotóxicos que foram liberados, após a Segunda Guerra

Mundial para uso, sem a realização de testes adequados de biossegurança. Só posteriormente, parte dos efeitos nefastos causados por eles se tornaria conhecida. Foi preciso a morte e a dor de inúmeras pessoas contaminadas para que as restrições de uso aumentassem. Até hoje não houve reparação alguma por partes das empresas fabricantes destes produtos às vítimas intoxicadas ou mortas.

RISCOS AO MEIO AMBIENTE

Entre os riscos ambientais, a poluição genética, por meio da transferência vertical e da transferência horizontal, é a ameaça considerada mais importante. Em decorrência disto, espécies que adquirirem certos transgenes poderão alterar seu valor adaptativo e, conseqüentemente, a dinâmica de suas populações e de outras espécies as quais interagem estará desafiada. Contudo, outros riscos são possíveis como efeitos danosos em espécies não-alvo (aves, minhocas, peixes, entre outros), contaminação de solo e água, cujas dimensões também são impossíveis de prever antes dos estudos a serem realizados (Nodari & Guerra, 2000a). Do ponto de vista agrícola, a transferência de genes pode provocar o surgimento de plantas daninhas e pragas resistentes, bem como variantes genéticas, cujas características não se pode antecipar. Além disso, a agrodiversidade, que é a diversidade genética em cultivo mantida pelos agricultores, poderá ser afetada.

Transferência vertical – refere-se ao acasalamento sexual entre indivíduos sexualmente compatíveis, geralmente da mesma espécie e, raramente, de espécies afins. O acasalamento é uma via para o fluxo gênico, entre plantas da mesma espécie, como entre plantas de diferentes espécies. Assim, de longa data têm sido observados cruzamentos entre indivíduos de populações em estado incipiente de especiação ou de espécies aparentadas. Exemplos disso são os cruzamentos entre o arroz cultivado e o arroz perene, milho e teosinto, um de seus possíveis ancestrais (Doebley, 1990), beterraba cultivada e beterraba não domesticada e entre espécies cultivadas e inços do gênero das abóboras (Wilson, 1990).

Os impactos ecológicos da transferência de pólen, um mecanismo reprodutivo pelo qual a introgressão pode ocorrer, dependem da capacidade dos híbridos em sobreviver e reproduzir. Taxas de sobrevivência ou de reprodução

indicam a oportunidade da introgressão de transgenes em populações naturais, dependendo do fluxo gênico subsequente e da pressão de seleção (Wolfenbarger & Phifer, 2000). Estes autores relataram 11 casos de formação de híbridos entre variedades transgênicas e plantas aparentadas e/ou daninhas. Para se tornar uma ameaça, como uma planta invasiva, os híbridos precisam ser viáveis e competitivos, além de férteis quando dependem da reprodução sexual para propagação. Com base no que se conhece hoje, nem todos os híbridos vão atingir a última fase.

Os poucos estudos associados à introgressão de transgenes e suas consequências ecológicas em populações naturais ainda não permitem fazer previsões confiáveis. Contudo, a experiência anterior com plantas de lavoura sugere que os efeitos negativos são possíveis. Para doze das treze espécies de maior importância econômica mundial, a hibridização com parentes selvagens contribuiu para a evolução de algumas espécies de ervas daninhas. Em alguns casos, os elevados níveis de introgressão a partir de parentes cultivados ou introduzidos eliminaram a diversidade genética e contribuíram para sua extinção (Ellstrand et al., 1999).

Quando são viáveis e havendo fertilidade, mesmo baixa, a sobrevivência dos híbridos interespecíficos se torna possível, e estes podem cruzar com plantas de qualquer uma das duas espécies parentais. Caracteriza-se, então, o processo de introgressão de genes de uma espécie para outra. No caso do cruzamento entre canola transgênica e a mostarda silvestre, o número de sementes da segunda geração do híbrido foi dez vezes maior do que o F_1 . Algumas plantas descendentes do cruzamento produziram 10 mil sementes e o gene de resistência ao herbicida ainda permanecia numa grande quantidade de plantas. Isto demonstra que a transferência de genes que condicionam resistência a herbicidas pode ocorrer com maior intensidade e facilidade do que se imaginava antes desta descoberta (Chèvre et al., 1998).

Uma vez dentro de populações silvestres, os transgenes poderão tornar estas plantas mais invasivas e, portanto, potencialmente perigosas para a agricultura ou a biodiversidade (Fontes et al., 1996). Mas também pode ocorrer, segundo as autoras, que a presença do transgene diminua a adaptação natural, o que tornaria a população vulnerável à extinção. No caso de transferência de outras características para outras espécies afins, praticamente nada pode ser antecipado, devido à ausência de dados. Contudo, se o valor adaptativo de um

híbrido interespecífico for aumentado com a presença deste gene transferido, é factível que tal gene se mantenha via introgressão.

A transgenia ainda pode afetar o processo reprodutivo em plantas. Um aumento da taxa de fecundação cruzada foi verificado em *Arabidopsis thaliana*. Bergelson et al. (1998) constataram um aumento de 20 vezes na frequência de fecundação cruzada em plantas transgênicas comparativamente às plantas não-transgênicas.

Tabela 2. Exemplos selecionados de transferência de genes de resistência a herbicida de plantas transgênicas para suas plantas daninhas.

Cultura	Planta daninha	Herbicida	Autor
Canola	Mostarda silvestre	Basta	Chèvre et al., 1998
Trigo	<i>Aegilops cylindrica</i>	Round-up	Steven et al., 1998
Sorgo	'Johnson grass'	Round-up	Arriola & Ellstrand, 1998
Beterraba	Beterraba não domesticada	Round-up	New Scientist, 21/10/2000
<i>Agrostis stolonifera</i>	<i>A. canina</i> , <i>A. capillaris</i> , <i>A. castellana</i> , <i>A. Gigantea</i> e <i>A. Pallens</i> .	Round-up	Wipff & Fricker, 2000

As plantas daninhas resistentes a herbicidas também podem se originar pela pressão de seleção sobre os recombinantes cada vez mais tolerantes, gerados naturalmente, ao herbicida aplicado. Dentre as mais de 100 plantas resistentes a herbicidas, três delas são plantas daninhas resistentes a formulações comerciais à base de glifosato: poaia-branca (*Richardia brasiliensis*), trapoeraba (*Commelina virginica*) e erva-quente (*Spermacoce latifolia*) (CTNBio, 1998).

Transferência horizontal ou lateral (TH) – Quando existe transferência de genes entre espécies filogeneticamente diferentes, na ausência do acasalamento sexual, configura-se a transferência lateral ou transferência horizontal. Neste caso, o material genético é transmitido de uma espécie para outra, provavelmente com auxílio de vetores (plasmídios, transposons e vírus). Elementos similares a transposons são veículos para cortar e ligar DNA genômico de um organismo noutro. Vírus também poderiam ser responsáveis pela transmissão de genes entre eucariotos. Na verdade, os mecanismos de transferência lateral são pouco estudados e, portanto, praticamente desconhecidos.

Diversos casos de absorção de DNA por parte de células eucariotas foram também registrados (Tappeser et al., 1999). Num deles, foi demonstrado que o DNA fornecido na alimentação de ratos não só não era totalmente destruído no trato gastrointestinal, mas também poderia alcançar a corrente sanguínea e temporariamente ser detectado nos leucócitos ou células do fígado. Outros exemplos de detecção de DNA de eucariotos em bactérias e animais, como DNA de milho transgênico em bactérias de intestino de abelhas ou DNA de milho transgênico em vários órgãos de galinhas, estão sendo noticiados pela imprensa, mas necessitam aparecer em publicações científicas ou serem validados cientificamente. A transferência horizontal é bem mais conhecida em bactérias, sendo os eventos menos comuns em animais e no homem comparativamente a plantas e microrganismos.

A filogenia de plantas indica que a TH de genes está envolvida no processo evolutivo. A fusão endossimbiótica – a mitocôndria e o cloroplasto fundidos com a célula nucleada em plantas – seria um caso específico de TH. Os genes citocromo *c* e *gapdhA* (gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase) devem ter sido transferidos de microrganismos para plantas (Syvanen, 1994). A transferência de material genético de *Agrobacterium tumefaciens* para plantas também é um exemplo bem ilustrativo. A edição de 21/05/99 da revista *Science* (1999) inclui inúmeros exemplos de transferência horizontal de genes. Assim, genes humanos já foram detectados em *Mycobacterium tuberculosis*, a bactéria que causa a tuberculose.

Experimentalmente, Nielsen et al. (2000) verificaram que o DNA de beterraba transgênica pode ser transferido para *Acinetobacter* sp. Strain BD413, uma bactéria de solo. Neste caso, a TH ocorreu de um extrato celular para plasmídeos de bactérias. Casos de transferência via recombinação homóloga são mais frequentes do que se imaginava (Nielsen et al., 1998).

Um outro estudo recente demonstrou também que a promiscuidade na transferência de DNA entre plantas é maior que se suspeitava. O intron do grupo I do genoma mitocondrial de plantas vasculares, que está localizado no gene *cox1* da espécie *Peperomia polybotrya*, teria sido adquirido por transferência horizontal (ou lateral) de um fungo. Analisando o DNA de 335 plantas de diferentes gêneros, Cho et al. (1998) verificaram que este intron está amplamente disperso nos genes *cox1* das angiospermas. O referido intron está presente em 48 gêneros diferentes, a partir de 32 eventos independentes

de transferência horizontal. Esta constatação revela a grande frequência das trocas de material genético na natureza e traz preocupações, em especial quanto à possível interação entre plantas transgênicas e outros vegetais.

Uma pergunta comumente feita relaciona-se com as conseqüências da introdução em plantas de genes (intactos ou modificados) originados de vírus patogênicos. Trocas de material genético também podem ocorrer entre plantas e vírus. A primeira evidência experimental sobre a recombinação entre uma planta transgênica contendo genes virais e um vírus foi obtida por Greene & Allison, em 1994, embora este tipo de recombinação já fosse conhecido desde os anos 80. A introdução de genes que codificam a capa protéica originada de vírus patogênicos, ou outras seqüências virais, é utilizada para conferir às plantas resistência aos próprios vírus doadores. É difícil estabelecer as conseqüências, caso este gene seja transferido para outras plantas. Contudo, um vírus poderá infectar uma planta transgênica que tem a proteína do encapsulamento de outro vírus. Neste caso ocorrerá uma transencapsidação, cujas conseqüências são totalmente desconhecidas.

Mais recentemente, um estudo com arroz transgênico, conduzido no John Innes Institute, da Inglaterra, corroborou a evidência de que o promotor do vírus do mosaico-da-couve-flor (CaMV), que também está presente na maioria das plantas transgênicas e nas suas progênies, é um sítio de alta frequência de recombinação gênica. Recombinação gênica é a troca de material genético entre duas moléculas de DNA, altamente similares geneticamente, que pode resultar numa terceira molécula diferente das duas parentais, e, portanto, um variante. O mais intrigante, entretanto, é que os autores verificaram que a maioria dos eventos era do tipo de recombinação “ilegítima” ou não-homóloga e não requeriam uma similaridade substancial na seqüência de bases. Tais eventos podiam ocorrer mesmo na ausência de genes virais (Kohli et al., 1999). Além disso, a seqüência de bases do promotor do CaMV, usado em várias plantas transgênicas, como a soja e o milho, é similar a regiões de vírus patogênicos à espécie humana. Desta forma, não se pode descartar a possibilidade de recombinações entre o transgene e outros vírus, resultando em novas combinações genéticas, cujas propriedades não são conhecidas, mas que necessitam ser estudadas antes do cultivo em larga escala de plantas que contêm estas seqüências. A priori, não se pode descartar, então, que a inserção de seqüências virais em plantas poderá tornar os vírus mais promíscuos e com isto provocar mais doenças em plantas.

Embora não se conheça a magnitude da contribuição da engenharia genética para a transferência horizontal, é possível levantar a hipótese de que o cultivo em larga escala de plantas transgênicas deve favorecer a TH. Geralmente, as plantas transgênicas contêm elementos mediadores da transformação *in vitro*, ou parte deles, e também da TH, como plasmídeos, transposons e vírus. Os vetores utilizados para a obtenção de plantas transgênicas frequentemente apresentam na construção quimérica origem de replicação, seqüências de transferência, promotores fortes e genes de resistência a antibióticos. Todos estes elementos facilitam a recombinação e a transferência de genes. Plasmídeos e vírus quiméricos estão sujeitos a instabilidades estruturais, o que facilita também a recombinação (Ho et al., 1998). Na natureza, a poluição com metais pesados pode se constituir em fator benéfico para a transferência de genes. Como parte das seqüências introduzidas são homólogas a muitos procariotos, a transferência de material genético para eles via recombinação é factível. Dependendo das seqüências introduzidas na planta transgênica, haverá uma maior ou menor probabilidade de favorecimento para a TH.

Outro aspecto importante está relacionado com a freqüência de ocorrência da TH. Embora, algumas estimativas sejam baixas, como 2×10^{-17} , o número de cópias em cultivo poderá ser muito alto. O fato de que uma planta pode conter mais de dois trilhões de células, e um hectare de soja mais de 300 mil plantas, permite supor a probabilidade da existência de mais de $1,2 \times 10^{-18}$ de cópias por hectare, de um transgene. Considerando o cultivo em pelo menos cinco milhões de hectares, não é difícil concluir que uma ou mais recombinações podem de fato ocorrer, mesmo porque, a probabilidade de sua ocorrência, embora baixa, é finita, ou seja, tem um valor que é influenciado por vários fatores.

De crucial importância também é o efeito individual de cada transgene. Na tecnologia denominada de ‘terminator’, os embriões contidos nas sementes a serem colhidas pelos agricultores são defeituosos. Um dos componentes do sistema é a enzima recombinase, a qual tem o potencial de misturar genomas. Esta foi a conclusão a que chegaram Schmidt et al. (2000). A recombinase Cre é parte do sítio específico de recombinação Cre/lox, originalmente isolado do bacteriófago P1. Cre catalisa a recombinação entre dois sítios lox, retirando qualquer pedaço de DNA entre ambos. Estes sítios ‘ilegítimos’ frequentemente carregam pouca similaridade em relação ao elemento lox. Não há dados sobre o reconhecimento ilegítimo em animais e plantas. Segundo os autores, altos

níveis de expressão de Cre nas espermátides de ratos transgênicos heterozigotos levam a 100% de esterilidade em machos, mesmo na ausência dos sítios lox. A esterilidade seria causada pela quebra e reunião de DNA em sítios inapropriados. Embriões fertilizados por estes espermatozoides não passam do estágio de quatro células. “Estes resultados indicam que Cre tem conseqüências patológicas em animais”, concluíram os autores.

São duas, então, as principais implicações da TH. A primeira refere-se à maior probabilidade de transferência horizontal de genes a partir de plantas transgênicas comparativamente às variedades tradicionais. A segunda refere-se ao fato de que os genes com potencial de disseminação podem dar vantagem seletiva aos organismos receptores, o que poderá alterar dramaticamente a dinâmica das populações e a paisagem. Como ainda não é possível determinar a probabilidade de um evento de TH ocorrer, bem como suas conseqüências, torna-se praticamente impossível fazer qualquer previsão realística na ausência de novos estudos.

Transferência horizontal em bactérias – Estudos comprovaram que a recombinação e a transferência horizontal entre bactérias aceleram a disseminação de regiões genômicas destes organismos causadores de doenças, bem como a disseminação de genes de resistência a antibióticos (Ho et al., 1998). É bem conhecido o exemplo da estreptomicina em suínos. Após um ano de aplicação deste antibiótico em animais (1983), genes de resistência à estreptomicina estavam presentes em bactérias que viviam na garganta e estômago dos suínos. Um ano mais tarde, bactérias humanas dos familiares que lidavam com estes animais também apresentaram resistência à estreptomicina. Esta é uma prova inequívoca de transferência lateral de genes entre bactérias. Em 1990, este antibiótico foi praticamente retirado de circulação porque já não era mais efetivo.

A maioria das plantas transgênicas desta primeira geração de OGMs contém genes de resistência a antibióticos, cuja função é possibilitar a seleção das células transformadas. Embora a freqüência de transformação e, conseqüentemente, a transferência horizontal em bactérias seja extremamente baixa, os genes de resistência a antibióticos inseridos em plantas transgênicas poderão ser transferidos para bactérias humanas, o que se constitui num risco a ser considerado.

A relação entre os genes de resistência a antibióticos e à saúde humana está no fato de que nos últimos 20 anos, mais de 30 novas doenças ocorreram na espécie humana (AIDS, ebola e hepatites, entre outras). Além disso, houve o ressurgimento de doenças como a tuberculose, a malária, a cólera e a difteria com muito mais agressividade por parte dos microrganismos patogênicos. Paralelamente, houve um decréscimo na eficiência dos antibióticos. Nos anos 40, um antibiótico tinha uma vida útil de 15 anos. Nos anos 80, a vida útil passou para cinco anos, ou seja, três vezes menos (Ho et al., 1998).

A transferência horizontal de material genético entre diferentes bactérias é relativamente comum. Sendo assim, o desenvolvimento de OGMs sem genes de resistência a antibióticos pode evitar os riscos acima mencionados.

Ameaças diretas aos componentes da biodiversidade – As ameaças aos componentes da biodiversidade são múltiplas, pois, em um ecossistema devem ser considerados não somente os organismos vivos, mas também os processos ecológicos.

Um trabalho que causou grande impacto na comunidade científica avaliou o efeito do pólen de milho transgênico em lagartas da borboleta-monarca (*Danaus plexippus*). A taxa de mortalidade destas lagartas atingiu 44% quando se adicionaram ao seu alimento natural folhas de *Asclepias curassavica*, pólen de uma variedade de milho transgênico, que contém um gene de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) que codifica para uma toxina tóxica a vários insetos. Entretanto, todas as lagartas que receberam pólen de milho não-transgênico, ou nenhum pólen, sobreviveram (Losey et al., 1999). O trabalho recebeu críticas metodológicas, porém, um ano depois, resultados semelhantes foram obtidos em experimentos no campo. Neste caso, o pólen das variedades de milho transgênicas KnockOut (evento 176) e YieldGard (*Bt* 11), ambos da Novartis Seeds, também provocou mortalidade (Hansen Jesse & Olbrycki, 2001).

Também se conhece pouco sobre as possíveis alterações na associação entre plantas e fungos micorrízicos. O primeiro estudo sobre os exudatos na rizosfera de plantas transgênicas foi publicado recentemente (Saxena et al., 1999). Nesse trabalho observou-se que as toxinas inseticidas *Bt* podem permanecer ativas no solo, onde se ligam a argila e a ácidos húmicos. Mesmo ligadas a estes componentes do solo, as toxinas mantêm suas propriedades inseticidas e são protegidas contra a degradação por microrganismos porque

estão ligadas às partículas do solo, onde podem persistir por pelo menos 234 dias. Quais são as implicações destes fatos?

Uma revisão recente feita por Wolfenbarger & Phifer (2000) assinala nove estudos focalizados no perigo de variedades transgênicas sobre organismos não alvo, incluindo os já mencionados. Em um terço deles, nenhum efeito negativo foi observado nas características avaliadas. Os resultados revelaram que as variedades transgênicas causaram maior mortalidade e diminuíram a viabilidade de ovos e a longevidade dos adultos de insetos não alvos, além de diminuir a diversidade bacteriana na rizosfera. Como consequência, a taxa de decomposição dos restos culturais e dos níveis de carbono e nitrogênio poderá diminuir e afetar a fertilidade do solo. Assim, a produtividade dos cultivos poderá decrescer em face da diminuição da diversidade dos microrganismos de solo.

Um dos aspectos relevantes na atualidade é a preservação da identidade do produto como requisito de qualidade. Não se trata apenas de segregação, mas de manter a identidade de um produto desde sua origem até o consumo. Contudo, na agricultura, esta preservação de identidade está longe de ser atingida. Nem a segregação simples pode ser garantida, mesmo por países como Estados Unidos. É ilustrativo o caso do milho transgênico StarLink (da Aventis CropScience), um tipo de *Bt* que contém o gene *Cry9C*, aprovado pela Environmental Protection Agency – EPA – para alimentação animal mas não para consumo humano. Este milho contém uma proteína (*Cry9C*) que pode causar reações alérgicas em humanos, uma vez que ela não foi quebrada imediatamente nos testes de digestão. Tanto grãos quanto subprodutos foram misturados com grãos não-transgênicos, conforme análise de produtos alimentícios de consumo humano. Além disso, houve também a contaminação de colheitas que deveriam ser não-transgênicas devido à disseminação do pólen.

Não só o cultivo de variedades melhoradas não-transgênicas, mas a agrobiodiversidade, que pode ser definida como a diversidade de espécies agrícolas, composta de variedades crioulas mantidas pelos agricultores, também pode ser ameaçada pelo cultivo dos transgênicos. Na análise dos riscos está sendo ignorada uma realidade fundamental: o pólen de milho pode ser carregado pelo vento até 9,6 km. Segundo o professor Walter Fehr, melhorista da Iowa State University, “não é somente o que você faz. É também o que seu vizinho faz”, ressaltando que “agricultura é vizinhança”, quando se trata de identificação,

segregação e rotulagem de cultivos transgênicos. Com esta mobilidade do pólen, uma simples lavoura de transgênicos pode contaminar várias outras não-transgênicas, numa área relativamente grande. Como decorrência, separar os agricultores em duas classes, uma que produz transgênicos e outra que não os cultiva, não ajuda muito (Washington Bureau, 1 Oct. 2000). Este alerta é corroborado por vários episódios de contaminação de lavouras de milho com pólen de milho transgênico. Alguns destes casos estão sendo analisados pela justiça americana.

Em diversos municípios do Sul do Brasil, estão sendo organizadas anualmente Feiras de Sementes. Na segunda edição de uma delas, realizada em 15 de julho de 2000 em Porto União (PR), 49 representantes de comunidades situadas em 13 municípios expuseram amostras de 41 variedades crioulas de milho e 46 de feijão, para citar apenas duas das 51 espécies identificadas na referida feira. Surpreendentemente, formas de teosinto também são mantidas pelos agricultores daquela região. Assim como esta, uma ampla diversidade de espécies e formas dentro de espécies é exposta ano a ano nestas feiras de sementes. Ensaio com variedades crioulas feitas por técnicos da Emater/RS, em David Canabarro, revelaram que seu potencial chegou a mais de seis toneladas por hectare (Dados não publicados). Além do rendimento, estas variedades crioulas contêm uma ampla gama de características, com alta variabilidade genética, estando continuamente submetidas ao processo evolutivo e gerando, anualmente, novas recombinações. Esta agrodiversidade deve ser considerada nas avaliações de riscos ambientais. O mínimo que se pode fazer é informar aos agricultores o que poderá acontecer com seus materiais, caso transgênicos sejam cultivados nas proximidades e levar em consideração a opinião deles.

Nas regiões de ocorrência natural de alta diversidade genética de uma espécie ou espécies afins, como é o caso de algodão ou amendoim no Brasil, o cultivo de plantas transgênicas destas espécies merece análise mais rigorosa. No México, por exemplo, ainda não foi liberado o cultivo comercial de milho transgênico, devido à existência de extensas áreas com populações ancestrais e parentes silvestres da espécie. O Brasil é ainda berço de várias espécies cultivadas ou apresenta regiões com alta variabilidade genética nas populações crioulas ainda em cultivo, situação esta que requer muita cautela. Como avaliar adequadamente este tipo de risco é sem dúvida um grande desafio.

A determinação de riscos de plantas transgênicas que contêm inseticidas é complexa. Não se conhece ainda profundamente o efeito destas sobre insetos ou outros organismos benéficos. Tampouco, os poucos estudos sobre pássaros ou outros animais que se alimentam de insetos que se alimentam de plantas transgênicas não proporcionam um conhecimento amplo do assunto.

Riscos socioeconômicos, com ênfase na agricultura – Dentre eles, os mais relevantes seriam o aumento da população de pragas e microrganismos resistentes e/ou patogênicos, o aumento ou promoção de plantas daninhas resistentes a herbicidas, a contaminação de variedades crioulas mantidas pelos agricultores, a contaminação de produtos naturais como o mel, a diminuição da diversidade em cultivo com o aumento da vulnerabilidade genética, a dependência dos agricultores a poucas empresas produtoras de sementes, produtividade e os preços ainda indefinidos.

Um fato é inquestionável: os insetos que hoje são susceptíveis ao *Bt*, no futuro, serão resistentes ao *Bt*. Resta saber em quanto tempo. Se houver uma grande área plantada com variedades transgênicas resistentes a um inseto, somente os resistentes sobreviverão, gerando progênies recombinantes, que eventualmente apresentarão maior nível de resistência à toxina. Após vários ciclos de recombinação, deverão aparecer insetos resistentes ao gene *Bt*. No caso de esta resistência ser condicionada por genes dominantes, a velocidade do aumento da frequência dos alelos de resistência é extraordinariamente maior, comparativamente àquela observada para alelos recessivos (Figura 2; Crow, 1986). Com isto, cria-se uma superpraga, como já ocorreu com o uso de agrotóxicos. O fato de que a resistência da lagarta *European corn borer* (*Ostrinia nubilalis*) às formulações comerciais de *Bt* (ex: Dipel) seja controlada por um gene parcialmente dominante (Huang et al., 1999) indica que o sistema de refúgio só será efetivo por poucos anos, porque a maioria da progênie dos insetos será resistente à toxina e, portanto, atacará as variedades *Bt*. O que de fato acontecerá com a frequência dos insetos resistentes alvos e não-alvos, nas condições brasileiras, é difícil de prever.

O sistema de refúgio apreçoado como uma prática de manejo, que retardaria o aumento na frequência de insetos resistentes, consiste no cultivo de uma pequena faixa com variedades susceptíveis, o que permitiria o acasalamento entre insetos susceptíveis e resistentes. Uma das premissas para que o sistema seja duradouro, é que a resistência dos insetos à toxina *Bt* deve ser recessiva.

Em caso contrário, rapidamente os alelos de resistência serão prevalentes. Com o aumento rápido da frequência de insetos resistentes ao *Bt*, o uso atual de formulações comerciais à base de *Bt* em lavouras orgânicas fica comprometido, como também a produção de produtos com este tipo de inseticida, considerado muito menos tóxico que os demais.

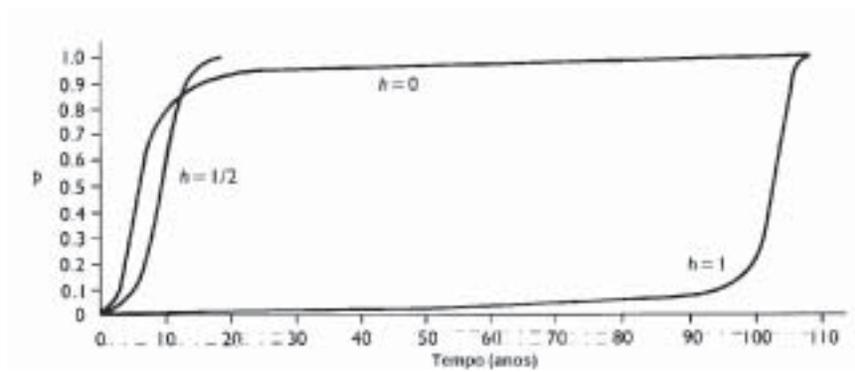


Figura 2. Evolução da frequência de um alelo de resistência (p) quando é recessivo ($h=1$), dominante ($h=0$) ou quando existe co-dominância ($h=1/2$)⁽²⁾.

A transgenia também pode levar ao aumento de pragas de solo. Na cultivar transgênica de algodoeiro, Paymaster 1560 BG, resistente ao glifosato, observou-se um aumento na susceptibilidade ao nematóide-das-galhas (*Meloidogyne incognita* Kofoid & White), quando comparado com o parental não-transgênico Paymaster 1560 (Colyer et al., 2000). Embora um número limitado de cultivares tenha sido avaliado, os dados demonstram diferenças na susceptibilidade ao nematóide-das-galhas entre algumas cultivares transgênicas e seus parentais não-transgênicos. O resultado deste trabalho também indica a necessidade de estudos sobre a reação de plantas transgênicas às pragas e doenças antes da liberação para cultivo.

⁽²⁾ Para esta simulação, o indivíduo deve estar sob pressão de seleção e o coeficiente de seleção deve ser igual a 1, ou seja, no caso de insetos susceptíveis, eles morrem após se alimentarem de tecidos de uma planta que contém a toxina de *Bt* por exemplo. Para aquelas pragas cujos genes de resistência às toxinas são recessivos, o aumento da frequência ocorrerá lentamente. O contrário ocorrerá com aquelas pragas que carregam genes dominantes para a resistência. (Adaptado de Crow, 1986).

A dinâmica das populações de microrganismos de solo também poderá ser afetada pelo cultivo de plantas transgênicas. O uso de glifosato combinado ou não com outros herbicidas nas doses recomendadas sobre o cultivo de Soja RR apresentou maior incidência de fusarium nas raízes uma semana após a aplicação, comparativamente à soja não-transgênica que não recebeu (Kremer et al., 2000). Os testes que foram realizados no campo no período 1997-2000 revelaram que a frequência de fusarium nas raízes aumentou de 0,5 a 5 vezes entre a segunda e a quarta semana após a aplicação dos herbicidas. O fusarium causa a síndrome da morte repentina (SDS) em soja.

O artigo More “Funny” Honey, publicado no *FOEE Biotech Mailout*, aborda a questão da perda de status do mel como alimento sadio e natural, como resultado da poluição causada pelos OGM. Análises efetuadas no mel indicaram a presença de pólen de canola transgênica tolerante a um herbicida. Este mel, coletado na Inglaterra em 1999 e analisado no Austrian Federal Laboratory em Vienna revelou a presença de DNA do gene de resistência ao mesmo herbicida.

Ainda são desconhecidos outros efeitos dos transgênicos sobre as abelhas, pois isto dependerá das proteínas codificadas pelos genes engenheirados. Contudo, dentre os trabalhos efetuados em abelhas com inibidores de proteases, cabe destacar um que demonstrou seus efeitos adversos quando abelhas foram alimentadas com açúcar contendo os referidos inibidores (Pham-Delégue, 1997). Este inibidores poderão se converter em estratégias de resistência a insetos, como já foi demonstrado em canola. Neste caso o efeito sobre abelhas poderá ser grande. Entretanto, ainda não está clara a associação entre a concentração dos inibidores e a magnitude dos efeitos. O autor verificou ainda que pólen de canola e soja transgênicas encurtou o ciclo de vida e alterou comportamentos associados ao olfato e à habilidade de apreender de abelhas melíferas.

Os resultados dos primeiros experimentos sobre os efeitos da inclusão de derivados de OGM na ração animal feitos por pesquisadores independentes começam a ser analisados. Segundo o jornal britânico *The Guardian*, de 04/11/2000, os pesquisadores Steve Kestin e Toby Knowles, da University of Bristol, verificaram que a mortalidade de frangos alimentados com milho transgênico foi praticamente o dobro (7,14%) comparativamente à mortalidade de frangos

tratados com milho convencional (3,57%). Os cientistas questionaram ainda os métodos e conclusões dos estudos da Aventis submetidos para análise das autoridades britânicas visando à liberação do milho transgênico. Contudo, estes resultados ainda devem ser validados cientificamente, pois este tipo de experimento deve ser efetuado para diferentes combinações de nutrientes, raças e condições climáticas.

As alternativas às plantas transgênicas – As principais demandas dos mais de seis milhões de pequenos agricultores familiares no Brasil, os quais, historicamente, ainda produzem a maior parte dos alimentos que chega à mesa dos consumidores, não estão associadas à necessidade das plantas transgênicas, mas, sim, à necessidade de uma política agrícola e agrária que vise à sustentabilidade e à rentabilidade de suas atividades. Assim, a necessidade e a urgência das plantas transgênicas para a agricultura brasileira é uma falsa questão. É importante mencionar que as plantas transgênicas desenvolvidas até o presente momento não atendem às necessidades da pequena propriedade familiar, ainda preponderante no país. As evidências científicas da utilização de plantas transgênicas com características de resistências a herbicidas (por exemplo, *RR*) ou portadoras de biocidas (por exemplo, *Bt*) na produção de commodities agrícolas nas grandes propriedades revelam o aumento na frequência de plantas invasoras e insetos resistentes aos transgenes, implicando a vida curta dessas tecnologias. Isto gerará demandas de novas tecnologias (variedades transgênicas e/ou agrotóxicos), o que aumentará o grau de dependência dos agricultores. A avaliação de risco deve necessariamente conter informações sobre outras alternativas que poderiam ser utilizadas, bem como um comparativo entre os riscos das diversas soluções.

Assim, é preciso avaliar simultaneamente alternativas sustentáveis do ponto de vista agrícola e ambiental. Uma delas seria a agrobiodiversidade, termo empregado para definir a diversidade genética (intra-específica) e a diversidade de espécies (interespecífica) em cultivo nas propriedades agrícolas. Recentemente, pesquisadores chineses demonstraram que a heterogeneidade das culturas é uma alternativa possível à vulnerabilidade das monoculturas às doenças. Observou-se que variedades de arroz susceptíveis à doença bruzone, cultivadas em mistura com variedades resistentes a esta doença, apresentaram 89% de acréscimo na produtividade e uma redução de 94% de severidade dessa moléstia comparativamente à monocultura (Zhu et al., 2000). O sucesso

dessa técnica, que é a simples mistura de diferentes variedades, foi tão significativo que, no segundo ano, não foi necessária a aplicação de fungicidas. Os resultados mostraram que a diversificação intra-específica das culturas proporciona um ambiente adequado para o controle de doenças que pode ser efetivo em grandes áreas, podendo contribuir para a sustentabilidade da produção agrícola.

O país que detém a maior diversidade de espécies vegetais certamente deve ter um número de espécies comestíveis e agricultáveis capaz de proporcionar diferentes dietas balanceadas para as diferentes populações, respeitando-se sua cultura e suas necessidades. Vitamina A ou caroteno, por exemplo, são encontrados em dezenas de espécies comestíveis.

O fato é que as plantas transgênicas estão sendo consideradas como a única maneira de aumentar a competitividade. Mas análises comparativas com outras matrizes de produção agrícola ainda não foram feitas.

A Pertinência dos Estudos de Impacto Ambiental – Embora a matéria seja complexa, há o entendimento de que estes estudos são necessários conforme determinam o artigo 225 da Constituição Federal, a Lei Ambiental e a Resolução 237/97 do Conama, o que não teria sido observado pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio – no caso do pedido de liberação da Soja RR em 1998. Utilizando as competências inclusas no art. 2º do Decreto 1.752, que diz no item XIV “exigir como documento adicional, se entender necessário, Estudo de Impacto Ambiental (EIA) e respectivo Relatório de Impacto no Meio Ambiente (RIMA) de projetos e aplicação que envolvam a liberação de OGM no meio ambiente, além das exigências específicas para o nível de risco aplicável”, a CTNBio decidiu pela sua não exigência. Com base no artigo 225 da Constituição Federal, a sentença judicial exarada pelo Juiz Antonio Prudente exige o Estudo de Impacto Ambiental – EIA – acompanhado do Relatório de Impacto no Meio Ambiente – Rima – como condição indispensável para o plantio em escala comercial da Soja RR.

Não bastasse isto, a Convenção sobre a Diversidade Biológica – CDB – estabeleceu no Art. 14 que trata da Avaliação de Impacto e Minimização de Impactos Negativos, que cada Parte Contratante, na medida do possível e

conforme o caso, deve estabelecer procedimentos relacionados com a avaliação de impacto ambiental de projetos que possam ter sensíveis efeitos negativos na diversidade biológica, a fim de evitar ou minimizar tais efeitos e, conforme o caso, permitir a participação pública nesses procedimentos.

Uma série de perguntas relacionadas com as conseqüências da introdução em plantas de genes originados de outros organismos, incluindo os patogênicos (como genes de vírus ou parte deles) ainda permanece sem resposta. Um dos desafios, então, é o estabelecimento de um conjunto mínimo de protocolos e termos de referência que deverão nortear os testes para a obtenção de informações adequadas durante a realização da avaliação de riscos.

Assim, a avaliação de riscos deve fazer parte do estudo de impacto ambiental de uma planta transgênica, como parte imprescindível do pedido de licenciamento ambiental para atividades com OGMs.

A SITUAÇÃO NA EUROPA

Além da não aprovação de muitos dos OGMs em cultivo nos Estados Unidos, vários países da Europa estão invocando o artigo 16 da Diretiva 90/220, que lhes dá o direito de banir temporariamente um OGM se existem razões justas, como evidências científicas de que o produto constitui-se num risco à saúde humana e ao ambiente. Assim, já são seis países que baniram determinados OGMs, listados na Tabela 3.

Mais recentemente, outros banimentos estão sendo feitos com base no artigo 12 do Regulamento Europeu 258/97, relativo a alimentos e seus ingredientes. Assim, cada estado membro pode banir um produto se existem novas razões que levam a acreditar que o alimento é uma ameaça à saúde humana e ao ambiente. A Itália foi mais adiante e está desafiando a definição de 'equivalência substancial'. Assim, quatro variedades de milho transgênicos foram banidas porque não foram consideradas equivalentes às não-transgênicas em termos de composição final, valor nutricional e efeitos metabólicos.

Considerando a falta de dados científicos que assegurem que os produtos são saudáveis e seguros à espécie humana e ao ambiente, outros países estão também proibindo o cultivo de OGM e o consumo de seus derivados.

Tabela 3. OGMs banidos da Comunidade Européia.

Produto	Empresa	Estado membro	Comissão informou em	Comitês científicos deram sua opinião em
Milho Bt	Novartis	Áustria ⁽¹⁾	17.02.97	21.03.97 (alimento) 10.04.97 (nutrição animal) 12.05.97 (plantas)
		Luxemburgo ⁽¹⁾	17.03.97	21.03.97 (alimento) 10.04.97 (nutrição animal) 12.05.97 (plantas)
Canola	AgrEvo	Grécia ⁽¹⁾	05.11.98	18.05.99
		França ⁽¹⁾	20.11.98	18.05.99
		França ⁽¹⁾	20.11.98	18.05.99
Milho Bt	Monsanto	Áustria ⁽¹⁾	02.06.99	24.09.99
Milho	AgrEvo	Áustria ⁽¹⁾	05.05.00	Pendente
Milho Bt	Novartis	Alemanha ⁽¹⁾	08.05.00	Pendente
Milho Bt	Novartis		19.09.00	Pendente
	Monsanto AgrEvo	Itália ⁽²⁾		

⁽¹⁾ Invocando art. 16 da diretiva 90/220.

⁽²⁾ Invocando o art. 12 do Regulamento Europeu 258/97, desafiando o conceito de equivalência substancial.

Adaptado de Nature Biotechnology, 2000.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É importante ter em mente que a engenharia genética opera com base na manipulação do DNA de organismos vivos. Esta intervenção ocorre em âmbito muito mais complexo do que qualquer outra tecnologia já anteriormente aplicada. Esta tecnologia é aplicada em um nível de funcionamento da natureza a respeito do qual nossa base de conhecimento científico é ainda insuficiente (Griffiths, 1999).

Embora tenham havido avanços no conhecimento científico sobre os riscos associados ao cultivo de plantas transgênicas, o desenvolvimento da tecnologia

de OGM ainda se baseia em processos do tipo “tentativa e erro”, portanto, imprecisos e pouco científicos. Assim, os cientistas têm poucas condições de prever o comportamento do novo gene no organismo hospedeiro, sendo inadequado caracterizar-se a transgenia como *science-based technology*. Em suma, a engenharia genética encontra-se em seu estágio básico de pesquisa e ciência, sendo ainda prematura a liberação comercial de plantas transgênicas (Guerra & Nodari, 1999).

Desta forma, assume importância a adoção do Princípio da Precaução, estabelecido em acordos internacionais, como um princípio ético que afirma que a responsabilidade pelas futuras gerações e pelo meio ambiente deve ser combinada com as necessidades antropocêntricas do presente. Adotado no preâmbulo da Convenção sobre a Diversidade Biológica – CDB –, o Princípio da Precaução destaca “que quando exista ameaça de sensível redução ou perda de diversidade biológica, a falta de plena certeza científica não deve ser usada como razão para postergar medidas para evitar ou minimizar essa ameaça”. Assim, a adoção do Princípio da Precaução se constitui em alternativa concreta a ser adotada diante de tantas incertezas científicas. Desta associação respeitosa e funcional do homem com a natureza, surgem as ações antecipatórias para proteger a saúde das pessoas e dos ecossistemas. Este princípio deve guiar as atividades humanas, mas incorpora outros atributos, como justiça, equidade, respeito, senso comum e prevenção (Raffensperger & Tikner, 1999). Também, este princípio admite que a adoção de cautela poderia evitar conseqüências danosas que, eventualmente, um OGM possa apresentar como resultado de sua liberação apressada ao meio ambiente.

As avaliações, ainda iniciais, dos impactos ambientais potenciais, podem permitir uma decisão balanceada entre os possíveis benefícios e a extensão e irreversibilidade dos danos e riscos. É importante que a toxicidade ambiental relativa seja incorporada na análise das mudanças de padrões de uso e quantidade de pesticidas, e que os impactos das culturas tolerantes a herbicidas na conservação do solo sejam quantificados. Por outro lado, devem ser tomadas medidas que possam prevenir a transferência de genes para populações selvagens, bem como reduzir a evolução da resistência aos transgenes.

Como concluem Wolfenbarger & Phifer (2000), tanto os riscos quanto os benefícios dos OGMs podem variar temporal e espacialmente e devem ser analisados caso a caso. A elucidação destes riscos e benefícios dos OGMs envolve

a necessidade de estudos comparativos com outros sistemas e práticas agrícolas, tais como a agricultura orgânica. Nossa capacidade de prever os impactos ecológicos de espécies introduzidas, incluindo OGM, é imprecisa e os dados empregados para avaliar impactos ecológicos potenciais apresentam limitações. Esta inabilidade de prever acuradamente as conseqüências ecológicas, especialmente no longo prazo, aumentam a incerteza associada à avaliação de riscos, exigindo modificações nas estratégias de manejo destes riscos.

O intrigante neste momento de crise no uso das biotecnologias ditas modernas é que muitos dos riscos potenciais previamente anunciados estão de fato ocorrendo. Em 1989, Tiedje et al., e Pimentel et al. mencionaram que os principais riscos potenciais dos OGMs ao meio ambiente seriam: criação de novas pragas e plantas daninhas e um aumento das pragas já existentes por meio da recombinação gênica entre a planta transgênica e outras espécies filogeneticamente relacionadas; a produção de substâncias que são ou poderiam ser tóxicas a organismos não-alvos; o efeito disruptivo em comunidades bióticas e o desperdício de valiosos recursos genéticos, seguido de contaminação de espécies nativas com características originadas de parentes distantes ou de espécies não relacionadas e efeitos adversos em processos dos ecossistemas e origem de substâncias secundárias tóxicas após a degradação incompleta de químicos perigosos. Trabalhos publicados confirmaram os dois primeiros. Quanto aos dois últimos, há a necessidade de estudos.

A ampla gama de implicações que este tema dos OGMs engendra, ultrapassa hoje os limites da ciência. As questões éticas, sociais, econômicas e políticas não podem estar dissociadas do tema e do eixo das discussões. Parte da sociedade comunga a percepção de que este assunto está sendo conduzido de forma inadequada, como demonstram protestos de grupos de pressão e ONGs. Esta percepção encontra respaldo nos episódios recentes da doença da vaca louca, entre outros. Portanto, o diálogo deve ser social e extrapolar as paredes dos laboratórios científicos e gabinetes governamentais.

Por fim, também é preciso avaliar os impactos sobre o domínio no acesso e uso dos recursos genéticos. Afirma-se, com freqüência, que o insumo mais importante para o novo milênio é o conhecimento. As tecnologias decorrentes deste conhecimento poderão acentuar assimetrias nas relações econômicas e sociais entre as nações mais desenvolvidas e menos desenvolvidas, caso não forem estabelecidos mecanismos compensatórios e regulatórios. Não se pode

admitir que interesses econômicos de uma minoria se sobreponham aos interesses maiores da sociedade.

Contudo, os recursos genéticos não terão papel menos importante que o conhecimento. Biotecnologias sem diversidade são mero exercício acadêmico, como afirma um documento da FAO (1999). Desta forma, é imperiosa a manutenção da diversidade bem como é fundamental tomar as medidas para evitar as ameaças à erosão genética.

REFERÊNCIAS

ACKERLY, D.D.; DUDLEY, S.A.; SULTAN, S.E.; SCHMITT, J.; COLLEMAN, J.S.; LINDER, C. R.; SANDQUIST, D.R.; GEBER, M.A.; EVANS, A.S.; DAWSON, T.E.; LECHOWICZ, M.J. The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions. **BioScience**, v.50, n.11, p.979-995, 2000.

ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Blucher-USAID, 1960. 381p.

ARRIOLA, P.E.; ELLSTRAND, N.C. Crop-to-weed flow in the genus *Sorghum* (*Poaceae*): spontaneous interspecific hybridization between johnsongrass, *Sorghum halapense*, and crop sorghum (*S. bicolor*). **American Journal of Botany**, v.83, p.1153-1160, 1998.

BEETHAM, P.R.; KIPP, P.B.; SAWYCKY, X.L.; ARTZEN, C.J.; MAY, G.D. A tool for functional plant genomics: Chimeric RNA/DNA oligonucleotides cause in vivo gene-specific mutations. **Proceedings of National Academy of Sciences**, v.96, p.8.874-8.878, 1999.

BERGELSON, J., PURRINGTON, C.B.; WICHMANN, G. Promiscuity in transgenic plants. **Nature**, v.395, p.25, 1998.

CHÈVRE, A-M.; BARANGER, F.E.A.; RENARD, M. Gene flow from transgenic crops. **Nature**, v.389, p.924, 1998.

CHO, Y.; QIU, Y-L.; KUHLMAN, P.; PALMER, J.D. Explosive invasion of plant mitochondria by a group I intron. **Proceedings of National Academy of Sciences**, v.95, p.14.244-14.249, 1998.

COLYER, P.D.; KIRKPATRICK, T.L.; CALDWELL, W.D.; VERNON, P.R. Root-Knot Nematode reproduction and root galling severity on related conventional and transgenic cotton cultivars. **The Journal of Cotton Science**, v.4, p.232-236, 2000.

CTNBio. Comunicado n.º 54 , de 29 de setembro de 1998. Publicado no DOU nº 188 de 1 de outubro de 1998, Seção 03, p.56.

CTNBio. Legislação. Comunicados. Processos. [on-line] URL: <http://www.mct.gov.br/ctnbio>. 1999.

CROW, J. F. **Basic concepts in population, quantitative, and evolutionary genetics**. New York: W.H. Freeman and Company, 1986. 273p.

DARWIN, C. **On the origin of species**. New York: Athenaeum, 1967. 502p. A facsimile of the first edition, Londres, 1859.

DOEBLEY, J. Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. **BioScience**, v.40, p.443-448, 1990.

ELLSTRAND, N.C.; PRENTICE, H.C.; HANCOCK, J.F. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. **Annuals Review of Ecology and Systematics**. v.30, p.539-563, 1999.

FAO. Biotechnology. Roma, Food and Agriculture Organization. 12p. [on-line] URL: <http://www.fao.org/unfao/bodies/COAG>. 1999.

FEHR, W.R. **Principles of Cultivar Development**. London: Macmillan Publ., Vol. 1 e 2. 1987.

FONTES, E.G.; SANTOS, I.K.S.M.; GAMA, M.I.C. A biossegurança de plantas cultivadas transgênicas. In: TEIXEIRA, P.; VALLE, S. (Org.). **Biossegurança**. Uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1996. p.313-327.

GLIDDON, C. Memorandum: Select Committee on European Communities Second Report – Written Evidence, [on-line] URL: <http://www.publications.parliament.uk/pa/ld199899?ldselect/ldcom/11/11we22.htm>. 1999.

GREENE, A.E.; ALLISON, R.F. Recombination between viral RNA and transgenic plant transcripts. **Science**, v.263, p.1423-1425, 1994.

GRIFFITHS, M. The millennium choice – genetic engineering or natural law? [on-line] URL: <http://www.bt.internet.com/~nlpvessex>. 1999.

GUERRA, M.P.; NODARI, R. O. Plantas transgênicas: os desafios da comunidade científica. **O Biológico**, São Paulo, v.61, n.2, p.107-112, 1999.

MORE “FUNNY” HONEY. **FOEE Biotech Mailout**, v.6, n.5, p.6, 31/07/2000.

HANSEN JESSE, L.C.; OLBRYCKI, J.J. Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. **Oecologia**, v.125, n.2, p.241, 2001.

HO, M-W.; TRAAVIK, T.; OLSVIK, O. TAPPESER, B.; HOWARD, C.V.; VON WEIZSACKER, C.; MCGAVIN, G.C. Gene Technology and gene ecology of infectious diseases. **Microbial Ecology in Health and Disease**, Stockholm, v.10, p.33-59, 1998.

HUANG, F.; BUSCHMAN, L.L.; HIGGINS, R.A.; MCGAUGHEY, W.H. Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin (Dipel ES) in the European Corn Borer. **Science**, v.284, p.965-967, 1999.

KOHLI, A.; GRIFFITHS, S.; PALACIOS, N.; TWYMAN, R.M.; VAIN, P.; LAURIE, D.A.; CHRISTOU, P. Molecular characterization of transforming plasmid rearrangement in transgenic rice reveals a recombination hotspot in the CaMV promoter and confirms the predominance of microhomology mediated recombination. **The Plant Journal**, v.17, n.6, p.591-601, 1999.

KREMER, R.J.; DONALD, P.A.; KEASTER, A.J.; MINOR, H.C. Herbicide Impact on Fusarium spp. and Soybean Cyst Nematode in Glyphosate-Tolerant Soybean. [on-line] URL: http://www.asa-cssa-sssa.org/cgi-bin/abstract_database_search.cgi?objective=Kremer. 2000.

LEWONTIN, R. **It ain't necessarily so** – The dream of the human genome and other illusions. New York: New York Review Books, 2000. 330p.

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

MILLSTONE, E.; BRUNNER, E.; MAYER, S. Beyond ‘Substantial equivalence’. **Nature**, London, v.401, p.525-526, 1999.

MOMMA, A. N. Rotulagem de plantas transgênicas e o agronegócio. **Revista de Direito Ambiental**, v.16, p.153-162, 1999.

NIELSEN, K.; BONES, A.M.; SMALLA, K.; VAN ELSAS, J.D. Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria – a rare event? **Microbial Reviews**, v.22, n.2, p.79-93, 1998.

NIELSEN, K.M.; VAN ELSAS, J.D.; SMALLA, K. Transformation of *Acinetobacter* sp. Starin BD413 with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kamycin on selection of transformants. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.3, p.1237-1242, 2000.

NEW SCIENTIST. Section: This Week, p. 6, 21 Octu.10/2000.

NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Biossegurança de plantas transgênicas. In: GÖRGENS, F.S.A. (Org.). **Riscos dos transgênicos**. Petrópolis: Vozes, 2000a. p.39-60.

NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Implicações dos transgênicos na sustentabilidade ambiental e agrícola. **História, Ciências, Saúde – Manginhos**, Rio de Janeiro, v.7, n.2, p.481-491, 2000b.

PETERSON, G.; CUNNINGHAM, S.; DEUTSCH, L.; ERICKSON, J.; QUINLAN, A.; RAEZ-LUNA, E.; TINCH, R.; TROEL, M.; WOODBURY, P.; ZENS, S. The risks and benefits of genetically modified crops: a multidisciplinary perspective. **Conservation Ecology**, v.4, n.1, p.13 [on-line] URL: <http://www.consecol.org/vol4/iss1/art13>. 2000.

PHAM-DELÉGUE, M. **Risk assessment of transgenic oilseed rape on the honeybee**. Paris: INRA, Laboratoire de neurobiologie comparée des invertébrés, 1997. p. 1-3.

PIMENTEL, D.; HUNTER, M.S.; LAGRO, J.A.; EFROYMSON, R.A.; LANDERS, J.C.; MERVIS, F.T.; MCCARTHY, C.A.; BOYD, A.E. Benefits and risks of genetic engineering in agriculture. **BioScience**, v.39, n.9, p.606-614, 1989.

RAFFENSPERGER, C.; TIKCKNER, J. **Protecting public health & the environment: implementing the precautionary principle**. Washington: Island Press, 1999, 385p.

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

SCIENCE. Microbial management. **Science**, Washington, v.284, p.1301-1307, 1999.

SCHMIDT, E.E.; TAYLOR, D.S.; PRIGGE, J.R.; BARNETT, S.; CAPECCHI, M.R. Illegitimate Cre-dependent chromosome rearrangements in transgenic mouse spermatids. **PNAS**, v.97, p.13.702-13.707, 2000.

STEVEN, S.; ZEMETRA, R.; FRANCIS, Y.L.; JONES, S.S. Production of herbicide-resistant jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) X wheat (*Triticum aestivum*) hybrids in the field by natural hybridization. Washington. [on-line] URL: <http://www.nalusda.gov/ttic/tektran>. 1998.

SUSUKI, D.T.; GRIFFITHS, A.J.F.; MILLER, J.H.; LEWONTIN, R.C. **An introduction to genetic analysis**. 3. ed. New York, W.H. Freeman and Company, 1986. 612p.

SYVANEN, M. Horizontal gene Flow: evidence and possible consequences. *Annual Review of Genetics*, v.28, p.237-261, 1994.

TAPPESER B.; JÄGER, M.; ECKELCKAMP, C. **Survival, persistence, transfer: An update on current knowledge on GMs and the fate of the recombinant DNA**. Penang: TWN, 1999. 44p.

TIEDJE, J.M.; COLWELL, R.K.; GROSSMAN, Y. L.; HODSON, R.E.; LENSKI, R.E; MACK, R.N.; REGAL, P.J. The planned introduction of genetically engineered organisms – Ecological considerations and recommendations. *Ecology*, v.70, n.2, p.298-315, 1989.

TRAAVIK, T. **Too early may be too late. Research Report for DN 1999-1**. Ecological risks associated with the use of naked DNA as biological tool for research, production and therapy. Trondheim, Norway, 1999. 106p.

WILSON, H.D. Gene Flow in squash species. *BioScience*, v.40, p.449-455, 1990.

WIPFF, J.K.; FRICKER, C.R. Determining gene flow of transgenic creeping bentgrass and gene transfer to other bentgrass species. *Diversity*, v.16, n.1/2, p.36-39, 2000.

WOLFENBARGER, L.L.; PHIFER, P.R. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science*, v.290, p.2088-2093, 2000.

ZHU, T.; METTENBURG, K.; PETERSON, D.J.; TAGLIANI, L.; BASZCZYNSKI, C.L. Targeted manipulation of maize genes *in vivo* using chimeric RNA/DNA oligonucleotides. *Proceedings of National Academy of Sciences*, v.96, p.8868-8873. 1999.

ZHU, Y.; CHEN, H.; FAN, J.; WANG, Y. LI, Y.; CHEN, J.; FAN, J.X.; YANG, S.; HU, L.; LEUNG, H.; MEW, T.W.; TENG, P.S.; WANG, Z.; MUNDT, C.C. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, v.406, p.718-722, 2000.