

PLANTAS TRANSGÊNICAS RESISTENTES AOS HERBICIDAS: SITUAÇÃO E PERSPECTIVAS ⁽¹⁾

PATRÍCIA ANDRÉA MONQUERO ⁽²⁾

RESUMO

Organismos geneticamente modificados (OGMs) ou transgênicos podem ser plantas, animais ou microorganismos que tiveram no seu material genético a introdução de DNA proveniente de outro organismo. Em alguns casos, esse organismo poder ser outro indivíduo da mesma espécie, ou o mais comum, de outra espécie com o qual não há cruzamento natural. O uso dessa técnica no melhoramento de plantas permitirá aumentar a produção, reduzir perdas na pós-colheita, obter culturas mais tolerantes ao estresse ambiental, obter culturas que usem mais eficientemente nitrogênio e fósforo; aumentar o valor nutricional dos alimentos; obter plantas resistentes a herbicidas, pragas e ou doenças; desenvolver alternativas para indústrias como as de combustíveis e farmacêuticas. Alguns consumidores acreditam que OGM não é natural e que o melhoramento convencional é melhor, pois segue os princípios naturais de seleção ou usa mutações naturais. Entretanto, é possível e muito comum obter combinações indesejáveis de genes através do melhoramento tradicional. Com relação a culturas resistentes a herbicidas, várias preocupações podem ser destacadas. Essas incluem: (a) deriva de herbicida para vegetação suscetível vizinha à cultura tolerante; (b) cultura resistente ao herbicida pode tornar-se planta daninha de difícil controle; (c) uso ilegal de sementes; (d) reação pública negativa à engenharia genética; (e) escape de genes para espécies nativas e (f) seleção de biótipos resistentes ou de espécies tolerantes ao herbicida utilizado. A geração dos organismos geneticamente modificados tem sido alvo de polêmica e discussão nos diversos segmentos da sociedade. Porém, não se deve generalizar o uso dos transgênicos, pois cada um deve ser analisado quanto às suas vantagens, desvantagens e contribuição à melhoria da qualidade de vida.

Palavras-chaves: transgênico, herbicida, ambiente.

ABSTRACT

RESISTANT TRANSGENIC PLANTS TO THE HERBICIDE: SITUATION AND PERSPECTIVES

Genetically modified organisms (GMOs) or transgenic may be plants, animals or microorganisms that have DNA inserted into their cells from another organism. In some cases, this organism may be from a other individue of the same species, or from another species with which they would not normally cross-breed. The use of genetic modification in plant breeding aims to: increase crop yields beyond the maximum for existing varieties; reduce post-harvest losses; make crops more tolerant to environment stresses; make crops that use efficiently nitrogen and phosphorous; improve nutritional value of foods; produce plants that are resistant to certain herbicide, pests or diseases; develop alternative resources for industry such as fuels and pharmaceuticals. Many consumers are concerned that genetic modification isn't natural and believe that conventional breeding is better than GMOs because it follows the principles of natural selection, or uses natural mutations. However, it is also possible to produce undesirable

⁽¹⁾ Trabalho recebido para publicação em 15 de setembro de 2004 e aceito em 11 de agosto de 2005.

⁽²⁾ Departamento de Recursos Naturais e Proteção Ambiental, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos. Rodovia Anhanguera, km 174, 13600-970 Araras (SP), Brasil. E-mail: pamonque@cca.ufscar.br

combinations of genes by conventional breeding. Several concerns are associated with the use of herbicide-tolerant crops. Those include: (a) drift to nearby susceptible plants; (b) herbicide-resistant crops becoming weedy and difficult to control; (c) illegal use of seeds; (d) negative public reaction to genetic engineer; (e) hybridization between GM crop plants and their wild relatives; and (g) increased selection for resistant weed biotypes or tolerant species. The generation of genetically modified organisms has fomented a controversial debate in various sectors of our society. Yet we must be cautious before generalizing the use of transgenics since each case should be analyzed regarding both its particular advantages and drawbacks, and contribution to the improvement of life quality.

Key words: transgenic, herbicide, environment.

1. INTRODUÇÃO

Durante muitos anos plantas cultivadas vêm sendo manipuladas geneticamente pelo homem, através de cruzamentos controlados, modificando por seleção a constituição genética de indivíduos ou de populações, objetivando obter genótipos superiores. Esse método é conhecido como melhoramento genético de plantas clássico ou tradicional. No entanto, segundo BRASILEIRO et al. (1997), nesse método podem surgir problemas tais como, a redução do *pool* gênico, incompatibilidade sexual, além do tempo necessário para que se transfiram caracteres desejáveis para cultivares de interesse. Atualmente, a biologia molecular, associada ao melhoramento e à genética, procura descobrir e entender os mecanismos biológicos envolvidos na transmissão de características de uma geração para outra.

A combinação de técnicas de biologia molecular, culturas de tecidos “in vitro” e transferência exógena de genes representa uma ferramenta poderosa para introduzir novas características em uma determinada planta. Genes oriundos de diferentes espécies vegetais, animais ou microorganismos podem ser introduzidos de forma controlada em um genoma vegetal receptor, de modo independente da fertilização. O gene responsável pela característica de interesse deve ser localizado, isolado, caracterizado e introduzido em vetores para a transformação de plantas (GANDER, 1996).

Existem métodos básicos para a transferência de genes para plantas. Pode-se utilizar, por exemplo, bactérias do solo que transferem naturalmente parte de seu genoma às células vegetais, no momento da infecção. As agrobactérias são microorganismos tipicamente do solo, aeróbicas e gram-negativas. O gênero *Agrobacterium* está subdividido em cinco espécies que diferem entre si pela patogenicidade e pelo modo de infecção em diferentes plantas. Dessa forma, *A. tumefaciens* é o agente etiológico da galha da coroa; *A. rhizogenes* causa a raiz cabeleira; *A. vitis*, induz tumores especificamente em *Vitis* spp; *A. rubi*

induz tumores especificamente em *Rubus* spp e *A. radiobacter* é saprófita- não patogênica. (BRASILEIRO et al., 1997).

Mais de 600 espécies vegetais são conhecidamente suscetíveis à infecção por *A. tumefaciens* e *A. rhizogenes*, pertencendo à maioria delas à classe de Angiospermas dicotiledôneas e Gimnospermas e, mais raramente, às Angiospermas monocotiledôneas (CLEENE e LEY, 1976).

A bactéria *A. tumefaciens* é capaz de infectar células vegetais, causando uma doença conhecida como galha da coroa caracterizada pelo desenvolvimento de um tumor no local da infecção. A doença está associada à presença, na *Agrobacterium*, de um plasmídio de alto peso molecular, o plasmídio Ti (*tumor inducing*). Durante o processo de infecção, uma seqüência específica presente no plasmídio Ti, o T-DNA (*transferred DNA*), é transferida da *Agrobacterium* para a célula vegetal. A expressão de genes presente no T-DNA, os oncogenes, interfere na biossíntese de hormônios vegetais (citocininas e auxinas), levando à formação das galhas. No caso de *A. rhizogenes*, a expressão dos oncogenes leva à formação de raízes-em-cabeleira. Embora os oncogenes sejam responsáveis pela formação do tumor (ou raízes, em *A. rhizogenes*), as únicas regiões do T-DNA essenciais para sua transferência são as seqüências de cerca de 25 pares de base localizadas nas extremidades. Assim, os genes presentes no T-DNA podem ser deletados (obtenção de linhagens “desarmadas”) e substituídos por genes de interesse, sem alterar o processo de transferência (WALDEN et al., 1990; ZUPAN e ZAMBRYSKY, 1995).

A especificidade da interação entre a bactéria e a planta pode variar muito, mesmo dentro da mesma espécie. Portanto, a determinação da melhor combinação patógeno-hospedeiro em qualquer espécie vegetal é essencial para o estabelecimento de um protocolo de transferência genética, usando o sistema *Agrobacterium*. Essa técnica tem sido aplicada em plantas como tomate, batata e pimentão (BRASILEIRO et al., 1997).

A eletroporação de protoplastos é um método utilizado para introduzir macromoléculas em células vegetais. Protoplastos são células desprovidas de paredes celulares, e, teoricamente, podem ser isoladas de qualquer tecido vegetal. Em condições bem estabelecidas de cultura de tecidos, os protoplastos reconstituem suas paredes, dividem-se, formam colônias, calos e regeneram plantas, por embriogênese ou organogênese (ABDULLAH et al., 1985; PANIS et al., 1993). A eletroporação consiste na aplicação de um pulso de alta voltagem a uma solução contendo DNA e protoplastos em suspensão, induzindo poros reversíveis nas membranas celulares, resultando em fluxos de íons e moléculas através da membrana deformada (CHANG, 1989). FROMM et al. (1985) utilizaram a técnica de eletroporação em protoplastos de milho e fumo, oferecendo assim uma alternativa de transformação de plantas, já que o sistema *Agrobacterium* era considerado ineficiente em monocotiledôneas.

O processo de biobalística foi inicialmente proposto por SANFORD et al. (1987), com o objetivo de introduzir material genético no genoma nuclear de plantas superiores. Desde então, sua universalidade de aplicações tem sido avaliada, demonstrando ser um processo também efetivo e simples para a introdução e expressão de genes em bactérias, fungos, protozoários, algas, insetos e tecidos animais (KLEIN et al., 1992; SANFORD et al., 1993; ARAGÃO et al., 1992).

A biobalística utiliza microprojéteis impulsionados em alta velocidade para projetar o DNA para dentro das células. Este bombardeamento é feito em equipamento apropriado capaz de acelerar as partículas (de 0,2-4 µm de diâmetro) cobertas com seqüências de DNA a velocidades maiores de 1.500 km/h. Foi demonstrado que esses microprojéteis (de ouro ou de tungstênio) penetram a parede e a membrana celular de maneira não letal, alojando-se aleatoriamente nas organelas celulares. Posteriormente o DNA é dissociado das micropartículas pela ação do líquido celular e integrado no genoma nuclear do organismo receptor (ARAGÃO et al., 1992). Os materiais mais utilizados para bombardeamento são: calos, embriões e segmentos foliares.

O passo seguinte é a obtenção de plantas e sementes das células que incorporaram o gene de interesse através de cultura de tecido. Durante essa fase, várias análises são realizadas para selecionar plântulas que incorporaram o gene escolhido. O uso de um bom marcador de seleção é fundamental para a recuperação "in vitro" eficiente de plantas transgênicas. O marcador de seleção confere caráter dominante às células transformadas, resultantes da

incorporação de nova característica, que não está presente nas células não transformadas. Essa nova característica permite a sobrevivência da célula vegetal transformada na presença de um agente de seleção que é, geralmente, um antibiótico ou um herbicida (BOWEN, 1993).

Os genes marcadores mais utilizados são: o gene *gus*, que codifica a enzima β- glucoronidase (GUS); o gene *lucA* da luciferase; o gene *nptII*, ou *neo* da neomicina fosfotransferase II (NPT II) e o gene *cat*, da cloranfenicol acetiltransferase (CAT). Ao contrário dos ensaios para a detecção da atividade na NPTII e CAT, que utilizam radioisótopos, e do utilizado para luciferase, que utiliza um luminômetro, o ensaio da GUS não requer radioatividade nem equipamentos específicos, embora seja destrutivo (RITCHIE e HODGES, 1993).

Após algum tempo de desenvolvimento, as plantas são transferidas para vasos e se desenvolvem em casa de vegetação com condições controladas, para a obtenção de sementes. Inicia-se então a fase de teste em campo, que tem por objetivo verificar o comportamento dessas plantas em condições normais de cultivo, sua eficiência agrônômica e sua capacidade de transferir o gene para outras plantas da mesma espécie.

2. SITUAÇÃO DOS TRANSGÊNICOS NA AGRICULTURA

Os primeiros experimentos de campo foram desenvolvidos em 1986 nos Estados Unidos e na França (FAO, 2000). Até 2003 as pesquisas abrangeram plantas relativas a cereais (milho, arroz, centeio); fibras (algodão, linho); forragem (alfafa); floresta (álamo, eucalipto); frutas (maçã, uvas, kiwi, melão, mamão, pêra, morango); óleo (canola, soja, girassol); hortaliças (aspargo, cenoura, couve-flor, pepino, alface, batata, batata doce, repolho, aipo) (ANBIO, 2003). Cerca de 72% de todos os experimentos foram realizados nos EUA e Canadá, seguidos, em ordem decrescente, pela Europa, América Latina e Ásia, com poucos na África, limitados à África do Sul. As culturas mais freqüentemente testadas foram: milho, tomate, canola, batata e algodão e as características mais freqüentes: tolerância a herbicida, resistência a insetos, qualidade do produto e resistência a vírus (JAMES, 2003).

A República Popular da China foi o primeiro país a comercializar plantas transgênicas no início da década de 90, com a introdução do fumo resistente a vírus, seguido pelo tomate também resistente a vírus (FAO, 2000).

Em 1994, a empresa Calgene obteve a primeira aprovação nos EUA para comercializar um alimento geneticamente modificado, o tomate “Flavr Savr”, que apresenta o amadurecimento retardado (FAO, 2000). A partir dessa modificação genética houve uma expansão da biotecnologia no campo. A indústria de biotecnologia dos Estados Unidos está pulverizada em 1,8 mil empresas, que empregam mais de 100.000 pessoas, e com rendimentos anuais na casa dos 13 bilhões de dólares (AVERY, 2000).

Em 1996, a área global de culturas transgênicas foi de 1,7 milhões de hectares. Essa área foi aumentada de 11,0 milhões de hectares em 1997 para 27,8 milhões de hectares em 1998. Em 2003, a área global de culturas transgênicas foi de 67,7 milhões de hectares, e seis países – EUA, Argentina, Canadá, Brasil, China e África do Sul - foram responsáveis por, 63%, 21%, 6%, 4%, 4% e 1%, respectivamente, ou seja, 99% da área mundial ocupada por plantas transgênicas. O Brasil e as Filipinas liberaram o cultivo de plantas transgênicas pela primeira vez em 2003 (JAMES, 2003). Segundo esse mesmo autor, entre 1996 e 2003, a área acumulada cultivada com plantas geneticamente modificadas excedeu os 300 milhões de hectares, atingindo grandes e pequenos produtores, tanto nos países industrializados quanto naqueles em desenvolvimento. Das cinco principais culturas transgênicas cultivadas, as duas principais foram soja e milho. Em 2003, a soja resistente a herbicida foi a cultura transgênica dominante (52% da área global de transgênicas), seguida por milho tolerante a insetos (24%), canola resistente a herbicida (9%), algodão resistente a insetos e a herbicida (9%) e milho resistente a herbicida (6%) (JAMES, 2003).

Na América Latina, experimentos científicos estão sendo desenvolvidos em grande velocidade no que se refere à produção de plantas transgênicas, em praticamente todos os países da região.

Em 2003, três produtos transgênicos resistentes desenvolvidos pela Embrapa foram liberados para testes em campo: o mamão transgênico resistente ao vírus da mancha anelar; o feijão transgênico resistente ao vírus do mosaico dourado e a batata resistente ao vírus “Y” (LAJOLO e NUTTI, 2003).

Até 2002, 103 instituições brasileiras ligadas às áreas de pesquisa humana e animal tiveram implementados ou alterados seus certificados de qualidade em biossegurança (CQB), sendo credenciados a trabalhar com plantas transgênicas. Desse contingente, a grande maioria é constituída por universidades e instituições de pesquisa públicas (CTNBIO, 2002).

Os produtos ou espécies agrícolas objeto de pesquisa transgênica no Brasil são: milho, soja, algodão, fumo, batata, feijão, eucalipto, mamão, estilosante, braquiária, cana-de-açúcar, alface, cenoura, trevo, jurubeba roxa, milho, pimentão, citros, maracujá, crisântemo, tomate, berinjela, alfavaca, alho, abóboras entre outras (CTNBIO, 2002).

Com relação a liberações planejadas no ambiente, 54% referem-se à resistência a herbicidas, 37% tolerantes a insetos, 8% resistência a herbicidas + tolerância a insetos, e 1% tolerantes a vírus. Em relação às espécies estudadas, 57%, 5%, 1%, 43% e 1% são referentes, respectivamente, a milho, soja, cana-de-açúcar, algodão e batata (CTNBIO, 2002).

3. CULTURAS RESISTENTES AOS HERBICIDAS

A seleção e a transferência de características de resistência aos herbicidas para as culturas economicamente importantes podem ser realizadas pelas seguintes técnicas biotecnológicas: (1) seleção de células e cultura de tecidos; (2) hibridação; (3) transferência de genes.

Seleção de Células e Cultura de Tecidos

Em princípio, plantas regeneradas de culturas *in vitro* são fenotípica e geneticamente idênticas à que lhes deu origem. Entretanto, dependendo do meio de cultura, da idade das células, do genótipo, do efeito da luz e da temperatura, um surpreendente número de tipos diferentes pode ser observado, e essa variabilidade é descrita como variação somaclonal (EVANS e SHARP, 1986). A utilização de células vegetais e cultura de tecidos se tornou uma das mais importantes técnicas para o desenvolvimento de cultivares resistentes aos herbicidas (HUGHES, 1983). Há exemplos de seleção utilizando resistência em protoplastos, micrósoros (SWANSON et al., 1988; HUANG, 1992), calos (TUBEROSA e LUCHESE, 1990) e suspensão de cultura de células vegetais (PARKER et al., 1990).

Um exemplo desta técnica é a exposição de culturas de calos de milho a concentrações diferentes e crescentes de imidazolinonas, e o subsequente isolamento dos setores resistentes. Plantas resistentes aos herbicidas foram regeneradas, e verificou-se que a resistência ocorreu devido a uma insensibilidade da enzima acetolactato sintase (ALS) aos herbicidas do grupo químicos das imidazolinonas (NEWHOUSE et al., 1991). Alguns casos de resistência, obtidos por essa técnica, têm sido ineficientes em condições de avaliação de campo (FALCO et al., 1989).

Hibridação

A transferência de resistência a herbicidas de biótipos de plantas daninhas para as plantas cultivadas da mesma família tem sido utilizada para desenvolver indivíduos resistentes. A resistência de biótipos da planta daninha *Setaria viridis* foi transferida para a espécie *Setaria italica* através de técnicas de fusão de protoplasma (DARMENCY e PERNES, 1989).

Biótipos resistentes a herbicidas inibidores da enzima ALS da planta daninha *Lactuca serriola* têm servido como fonte de resistência para o desenvolvimento de cultivares resistentes de *Lactuca sativa* (MALLORY-SMITH et al., 1990).

Através do melhoramento genético tradicional foram obtidas cultivares de milho resistentes às imidazolinonas e a *sethoxydin*, arroz resistente às imidazolinonas e soja resistente às sulfoniluréias (LAJOLO e NUTTI, 2003).

Transferência de genes

Os mecanismos de resistência a herbicidas que têm sido introduzidos usando transferência de genes são os seguintes: alteração do sítio de ação, degradação do herbicida e superprodução da proteína alvo. Em todos esses mecanismos podem ser observados efeitos colaterais nas plantas resistentes, tais como excesso de resíduos dos herbicidas, redução da adaptabilidade, produção de novos metabólitos, níveis limitados de resistência e efeitos pleiotrópicos (DYER et al., 1993).

Cultivares de canola (WIERSMA et al., 1989), milho (FROMM et al., 1990) e arroz (LI et al., 1992) resistentes aos herbicidas do grupo químico das sulfoniluréias têm sido obtidos através de transformação com genes que codificam a enzima ALS insensível à ação destes herbicidas. Plantas transgênicas de fumo, tomate, algodão, linho e batata, resistentes ao herbicida glifosato foram obtidas, seja pela introdução de uma enzima insensível ao herbicida, seja pela superprodução da enzima 5-enolpiruvatoshiquimato 3-fosfato sintase (EPSPS) (FILLATTI et al., 1987; VASLIN, 1993). Essa última está presente na rota de síntese dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano e é o sítio de ação do glifosato. Resistência pela detoxificação de herbicidas tem sido transferida de microorganismos para plantas cultivadas com algumas vantagens, tais como o alto grau de eficácia e o efeito insignificante na eficiência agrônômica. A soja resistente ao herbicida glifosato foi obtida pela introdução no genoma da planta do gene que codifica a EPSPS, isolado da bactéria *Agrobacterium tumefaciens* estirpe

CP4. A soja geneticamente modificada é capaz de metabolizar o glifosato, tornando-se imune aos efeitos destrutivos e letais desse herbicida (PADGETTE et al., 1996).

TORRES et al. (1999) desenvolveram plantas de alface (*Lactuca sativa*) cv. South Bay resistentes ao glifosato usando *Agrobacterium tumefaciens* contendo um plasmídeo carregando os genes glifosato oxidase e EPSPs.

4. EMPREGO DE CULTIVARES TRANSGÊNICOS RESISTENTES AOS HERBICIDAS

A utilização de cultivares resistentes aos herbicidas (HRCs) vem sendo feita extensivamente durante as últimas cinco décadas, pelo simples fato de que para uma cultura ser resistente basta um herbicida seletivo. No passado, isso era feito pelas indústrias de defensivos quando testavam várias moléculas de herbicidas sobre várias plantas daninhas e culturas, até descobrir para qual cultura o herbicida era seletivo. Porém, agora, um único herbicida pode apresentar seletividade para diversas espécies de plantas, através da transferência de genes que conferem resistência a uma determinada molécula, produzindo genótipos resistentes. Segundo BURNSIDE (1992) e LYSON (2002), as vantagens destas HRCs são: a) grande facilidade de superar problemas de manejo de plantas daninhas, b) maior facilidade para os produtores adotarem técnicas de manejo integrado ou dar continuidade ao manejo quando o controle cultural ou mecânico não são eficientes, c) aumento nas opções de manejo de plantas daninhas em culturas de menor importância, d) vantagens econômicas para os produtores, já que as culturas resistentes diminuem os prejuízos causados pela deriva de herbicidas, e pelos herbicidas persistentes no solo quando há rotação de culturas, além possibilitar o controle das plantas daninhas botanicamente relacionadas à cultura, e) maior segurança para o ambiente, já que se usaria um menor número de herbicidas em campo. Entre as principais preocupações com a utilização das HRCs estão: a) esta tecnologia não elimina o uso de herbicidas, b) risco de culturas HRCs tornarem-se plantas daninhas, c) diminuição da diversidade ecológica, d) riscos de aumentar o uso de herbicidas, quando utilizada em monocultura, provocando contaminação ambiental, e) culturas HRCs podem ser menos competitivas, f) o uso de HRCs pode aumentar a dependência dos produtores em práticas de controle químico de plantas daninhas.

5. ASPECTOS AMBIENTAIS

A comercialização de culturas resistentes aos herbicidas é uma questão polêmica, principalmente, no que diz respeito ao impacto ambiental que pode acarretar. HARRISON (1992) apresenta uma abordagem positiva, ressaltando que o desenvolvimento de cultivares resistentes está sendo acompanhado por redução na busca de novos herbicidas. WIESE (1992), em um sentido oposto, pondera que uma tecnologia pode ter aspectos positivos ou negativos dependendo de como é utilizada. Aponta alguns possíveis riscos, tais como: seleção de biótipos resistentes ou de espécies de plantas daninhas tolerantes devido ao uso contínuo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação, e necessidade de pesquisas mais profundas em relação à segurança de alimentos e à qualidade da água, quando utilizado OGM no ambiente. Este mesmo autor ressalta, entretanto, aspectos positivos como diminuição de prejuízos causados pela deriva de herbicidas para áreas cultivadas com culturas resistentes e diminuição no custo de controle de plantas daninhas.

Na Argentina, desde 1996, o ano em que a soja resistente ao glifosato (RR) foi amplamente cultivada pela primeira vez, a área destinada à produção de soja aumentou em uma proporção extraordinária de 2,4 vezes, passando de 6 milhões de hectares para 14,2 milhões em 2003/2004 (SAGPyA, 2004). Dada a expansão do número de hectares cultivados com soja RR, não é de se surpreender que o uso do herbicida glifosato tenha aumentado de maneira drástica. O uso total de glifosato na soja aumentou em 56 vezes de 1996/97 a 2003/04 e em 24% de 2002/03 a 2003/04 (CASAFE, 2004). Dependendo de um único herbicida ano após ano acelera a seleção de biótipos de plantas daninhas resistentes e espécies tolerantes. Na Argentina, PAPA et al. (2002), listaram as seguintes espécies de plantas daninhas tolerantes e que se tornaram problemas em áreas cultivadas por soja RR: *Parietalia debilis*, *Petunia auxiliares*, *Verbena litoralis*, *Verbena bonariensis*, *Hybanthus parviflorus*, *Iresine difusa*, *Commelina erecta* e *Ipomoea spp.*

Em plantas resistentes a herbicidas, as mudanças fisiológicas que garantem a resistência podem afetar a biota associada, em virtude das alterações na qualidade de exsudatos. A aplicação de herbicida também tem efeito direto sobre a biota e processos bioquímicos do solo, e indireto sobre a deposição de matéria orgânica na superfície do solo (SIQUEIRA et al., 2004). KING et al. (2001), em estudos com soja RR, verificaram que a aplicação parcelada de glifosato em doses elevadas (5 a 8,4 kg ha⁻¹) diminuiu o crescimento radicular e a nodulação,

reduzindo a atividade da nitrogenase em condições de déficit hídrico no solo, causando queda na produção de até 25%. Entretanto, como o estudo só comparou culturas transgênicas não se pode concluir que esses efeitos sejam decorrentes exclusivamente da transgenia. Já relatos preliminares de ANDRADE FILHO et al. (2003) indicaram não haver diferenças para a nodulação entre a soja RR e a soja convencional.

De acordo com BURNSIDE (1992) as culturas resistentes podem levar ao aumento no uso de herbicidas mais seguros ao ambiente e às soluções mais eficazes no controle de plantas daninhas problemáticas, ou seja, plantas que não possuem muitas opções de herbicidas para seu controle. Ressalta a necessidade de se utilizar uma sucessão de culturas resistentes a herbicidas com diferentes mecanismos de ação e métodos de controle não químico, para minimizar a probabilidade de seleção de biótipos resistentes ou de espécies tolerantes de plantas daninhas ao herbicida utilizado.

RADOSEVICK et al. (1992) consideraram questões éticas, tecnológicas e biológicas no uso de culturas resistentes aos herbicidas. Entre os problemas citam os possíveis escapes de genes da cultura resistente para outras populações de plantas e as questões éticas de manipulação de organismos vivos. Em alguns dados, verifica-se que a transferência de genes entre espécies próximas pode ocorrer em muitas situações, como por exemplo, entre o arroz cultivado e o arroz vermelho (LANGEVIN et al., 1990), beterraba cultivada e beterraba não domesticada (WILSON, 1990) e milho e teosinte, um dos seus possíveis ancestrais (DOEBLEY, 1990). O fluxo genético entre plantas de canola resistentes ao glifosato foi determinado, revelando que novas combinações de resistência podem ser expressas (HALL et al., 2000).

Sabe-se que para que ocorra hibridação intraespecífica é necessário que haja proximidade entre as plantas, o florescimento seja coordenado e que o pólen seja móvel, viável e compatível com os tecidos maternos (DYER et al., 1993). No Brasil não existe nenhuma espécie nativa e/ou silvestre que possa inter cruzar com *Glycine max*, o que torna improvável do ponto de vista científico, o fluxo gênico entre a soja RR e alguma planta daninha. Entretanto, com relação ao fluxo gênico vertical, ABUD et al. (2003) verificaram que a frequência de polinização entre uma linhagem de soja transgênica (*cp4-epsps*) e não transgênica (BR-16) foi inferior a 0,5% a 1 metro, e de 0,005%, a 10 metros de distância da fonte transgênica. Desse modo, o fluxo gênico entre plantas de soja pode ser evitado com o isolamento espacial de apenas 10 a 20 metros.

A introdução de novos genes no genoma pode resultar em fenótipos com características menos desejáveis ou inesperadas. Existem exemplos de

efeitos pleiotrópicos devido aos novos genes, como alteração na morfologia floral em algodão resistente ao glifosato o que resulta em redução na polinização e aumento no aborto de botões florais (PLINE et al., 2002).

NEWHOUSE et al. (1991) relatam que os herbicidas dos grupos químicos das sulfonilurêias e imidazolinonas representam grupos de interesse na introdução de resistência em culturas, pois possuem várias características favoráveis como bom espectro de controle, baixo impacto ambiental, baixa toxicidade aos mamíferos, flexibilidade de aplicação e registro em vários países.

Outro aspecto importante, segundo VIDAL (1997), é que na maioria das culturas resistentes aos herbicidas em desenvolvimento ocorre resistência a herbicidas de aplicação em pós-emergência como o glifosato e glufosinato, facilitando assim o uso de sistemas de semeadura direta, proporcionando maior conservação do solo e conseqüentemente menor contaminação das águas e do ambiente.

Para GOLDBURG (1992), as conseqüências ambientais devido ao uso de culturas resistentes aos herbicidas podem variar e dependem de fatores tais como: a espécie geneticamente modificada, quais herbicidas serão utilizados na cultura resistente e a segurança destas plantas modificadas como alimento humano e animal. Ressalta também, a possibilidade de aumento no uso de herbicida, recomendando, portanto, políticas que priorizem as pesquisas do setor público para o estudo do impacto global desta nova tecnologia.

6. ASPECTOS ECONÔMICOS

A adoção de culturas resistentes aos herbicidas pelos agricultores dependerá de fatores econômicos, da aceitação pelos consumidores e do impacto dessa tecnologia nas práticas agrícolas e no ambiente. O custo do pacote cultivar resistente/herbicida não deve ser maior do que o controle convencional de plantas daninhas, a não ser que haja vantagens adicionais como o controle de plantas daninhas botanicamente relacionadas às culturas e maior número de opções de herbicidas disponíveis (DYER et al., 1993).

Agricultores que utilizam culturas resistentes aos herbicidas nos Estados Unidos relatam que a principal vantagem dessa tecnologia é a redução no custo de produção. Entretanto, nos dias atuais fica claro que se esta tecnologia for utilizada em monocultura o custo de controle de plantas daninhas será semelhante ou maior do que na cultura

tradicional, já que devido à seleção de biótipos resistentes ou de espécies tolerantes, outros herbicidas deverão ser utilizados para o manejo destas plantas o que aumentará o custo de controle (GIANESSI et al., 2002).

Utilizando um modelo econômico, TAUER e LOVE (1989) estudaram os efeitos da adoção de milho resistente aos herbicidas nos EUA, e concluíram que (1) haveria menor custo de produção, portanto, os fazendeiros se beneficiariam com essa tecnologia; (2) os consumidores se beneficiariam devido ao menor custo dos alimentos e (3) eventualmente, a adoção desta nova tecnologia, aumentaria a área cultivada com milho, principalmente, em áreas que apresentassem como principal problema, alta pressão de plantas daninhas. Entretanto, OWEN (1998) constatou através de algumas experiências realizadas em Iowa, EUA, que o custo no controle de plantas daninhas em culturas resistentes aos herbicidas é similar aos sistemas tradicionais. Estes pesquisadores avaliaram o cultivo de milho tolerante ao *sethoxydin* em 1996 e 1997 e observaram que esta tecnologia não permitia o controle satisfatório das plantas daninhas *Panicum miliaceum* e *Agropyron repens*, sendo necessária a aplicação de outros gramínicos. Além disso, plantas voluntárias de milho tolerante causaram problemas no cultivo da soja, quando em rotação, fazendo com que houvesse a necessidade de se utilizar herbicidas com mecanismo de ação diferente do *sethoxydin*.

De acordo com TRIGO (2003), a introdução da soja RR (resistente ao herbicida glifosato) na Argentina, a partir de 1996, resultou na redução nos custos de produção de 20 a 25 dólares por hectare, ao mesmo tempo em que possibilitou a expansão da área cultivada com essa cultura em mais de 4,6 milhões de hectares. Indiretamente, de acordo com o autor, houve aumento de empregos no setor agrícola, facilidade de expansão da área plantada com cultivo direto e redução no uso de herbicidas de alta toxicidade.

As indústrias de produção de sementes são bastante competitivas e, portanto, o aumento no preço das sementes é apenas justificado se houver um benefício significativo para os fazendeiros, como ocorre com o desenvolvimento de culturas resistentes aos herbicidas (DYER et al., 1993). Nos Estados Unidos, a semente transgênica custa 56% a mais do que a convencional. Em geral esse preço extra tem sido praticado durante os dois primeiros anos de lançamento das cultivares resistentes para pagar pela pesquisa e desenvolvimento, e os royalties de patentes utilizados para a obtenção do produto.

No Rio Grande do Sul, onde o “lobby” dos produtores de soja forçou o governo a liberar a comercialização da safra de soja transgênica, o gasto com as sementes geneticamente modificadas é de R\$ 60,00 por hectare, enquanto as de soja tradicional custa R\$ 45,00 por hectare (SALOMON, 2003).

No Brasil, o lucro da Monsanto mais que dobrou com o aumento das vendas de sementes de milho e de soja, e do herbicida Roundup. O lucro líquido para o trimestre encerrado em 28 de fevereiro de 2005 foi de US\$ 373 milhões, ante US\$ 154 milhões em igual período do ano anterior. As vendas de sementes transgênicas cresceram de US\$ 874 milhões para US\$ 1,18 bilhão, e as vendas de glifosato (Roundup) aumentaram 30% no período citado (CANASCA, 2005).

As indústrias que desenvolvem culturas resistentes aos herbicidas precisam abrir canais de comunicação e discussão sobre os valores que essa tecnologia pode trazer à agricultura, à sociedade e às estratégias que assegurem o uso responsável e eficiente das culturas resistentes (GIAQUINTA, 1992). Além disso, a transferência dessa tecnologia deve ser feita por pessoal altamente capacitado, a fim de serem evitados problemas não previstos. Portanto, há necessidade de investimentos na capacitação profissional e treinamento adequado dos agricultores, agrônomos e pesquisadores (KNAKE, 1992).

7. ASPECTOS SOCIAIS

Com relação à qualidade de alimentos, culturas resistentes devido à introdução de enzimas exógenas que degradam a molécula de herbicida podem produzir metabólitos novos que não foram examinados durante o processo de registro do herbicida, e que precisam ser identificados e quantificados durante o processo de registro da cultura resistente (DYER et al., 1993). Uma cultivar resistente devido à alteração no genoma pode também ter sua bioquímica modificada e produzir toxinas endógenas que precisam ser analisadas. Não existem dados que estimem a probabilidade de ocorrência desse fato ou qual o risco associado. Entretanto, a segurança de alimentos oriundos de OGM tem sido observada por várias entidades (DYER et al., 1993). Nessa linha de pesquisa, RUHLAND et al. (2004), observaram não haver acúmulo de resíduos ou síntese de novos metabólitos em milho e canola geneticamente modificados, resistentes ao herbicida glufosinato de amônio.

A rejeição aos transgênicos baseia-se em três argumentos. O primeiro é que a manipulação genética é antinatural e por isso, essencialmente perigosa. O

segundo argumento é que os alimentos para os quais servem de matéria prima são perigosos à saúde humana e animal. O terceiro, que os transgênicos são danosos ao ambiente. Os opositores aos transgênicos alegam a necessidade de experimentos em longo prazo para confirmar se estes alimentos são isentos de perigo (ANBIO, 2003).

Segundo uma pesquisa realizada em oito países (Reino Unido, Dinamarca, Polônia, México, Brasil, Taiwan, Turquia e Estados Unidos), há uma ansiedade aguda sobre segurança dos alimentos, principalmente entre o público europeu. As autoridades têm se mostrado dispostas a proibir produtos, sem que riscos à saúde tenham sido comprovados, simplesmente porque tais alimentos despertam suspeitas na população. Nessa pesquisa, 58% dos entrevistados não estão dispostos a comer alimentos geneticamente modificados (GM), e 55% acreditam que é seguro enviar alimentos geneticamente modificados a países em necessidade. Também, 66% apóiam o desenvolvimento de produtos geneticamente modificados, se isso resultar em medicamentos mais baratos (ANBIO, 2003).

Para a avaliação da segurança alimentar é fundamental que os alimentos derivados de transgênicos sejam comparados com seus análogos convencionais. Esse é o principal critério utilizado para se avaliar a segurança alimentar e que levou a elaboração do conceito de equivalência substancial (ES) (IFT EXPERT REPORT, 2000). O conceito de ES faz parte de uma estrutura de avaliação de segurança que se baseia na idéia de que alimentos já existentes podem servir como base para a comparação do alimento geneticamente modificado com o análogo convencional apropriado (KUIPER et al., 2001). Se um alimento ou ingrediente derivado de transgenia for considerado substancialmente equivalente a um alimento ou ingrediente convencional, aquele alimento ou ingrediente poderá ser considerado tão seguro quanto esse (FAO/OMS, 1996).

Dentre os requisitos para se estabelecer a segurança de produtos transgênicos, avaliam-se especialmente o potencial alergênico da nova proteína expressa; a termoestabilidade; a digestibilidade no meio gástrico ou intestinal; a análise bioquímica de taxas de glicolização; e a análise de seqüências de aminoácidos da nova proteína comparativamente à de alergênicos convencionais; a toxicidade da proteína expressa pelo gene introduzido ou metabólito; efeitos secundários da inserção do gene e risco de possíveis mutagênese (CTNBIO, 2002).

As prateleiras dos supermercados brasileiros já exibem dezenas de produtos cuja composição contém cereais geneticamente alterados. Esses

produtos são importados dos EUA ou da Argentina, países que já cultivam comercialmente grãos transgênicos. Da fazenda à fábrica, existem várias etapas, como armazenagem e o transporte, em que grãos ou óleos de um tipo ou outro se misturam. Além disso, em vários casos o gene introduzido não é detectado no alimento modificado. Por essa razão, cerca de 60% de toda comida processada nos EUA já tem algum tipo de matéria-prima de origem transgênica. Pode haver dificuldade de rotulagem de alimentos derivados de plantas transgênicas devido à equivalência substancial entre os produtos convencionais. A questão chave é o consentimento informado, segundo o qual as pessoas devem ter o direito de escolha. Futuramente, o nível de interesse nessa questão pode desvanecer-se, mas cabe ao público decidir. Produtos alergênicos ou tóxicos requerem tratamento especial, seja transgênicos, seja convencionais. Estima-se que os alimentos transgênicos sejam consumidos por 2,5 bilhões de pessoas ao redor do mundo (SIMÕES, 1999).

8. EXEMPLOS DE HRCs

No momento, as culturas da soja, do milho, do algodão, arroz e canola têm recebido maior atenção em relação às pesquisas com variedades transgênicas tolerantes aos herbicidas. Assim, algumas particularidades de cada uma destas espécies serão destacadas com maiores detalhamentos.

Milho

Segundo OWEN (1998), existem no centro oeste norte-americano quatro herbicidas utilizados em culturas resistentes já com híbridos comerciais: glifosato, glufosinato; imidazolinona e *sethoxydin*. Com relação ao glifosato, o cultivar resistente de milho contém uma forma da enzima EPSPs (*cp4-epsps*) isolada a partir da linhagem CP4 da bactéria *Agrobacterium* sp. ocorrente no solo, e que metaboliza o herbicida em componentes menos tóxicos.

A comercialização deste milho geneticamente modificado já foi aprovada em países como Canadá, África do Sul, Estados Unidos e Bulgária. A importação para consumo está liberada na Austrália, Japão, Coreia, México, Colômbia, Filipinas, Rússia e Taiwan, entre outras nações (MONSANTO, 2002).

As primeiras plantas de milho geneticamente modificadas para resistência a herbicidas foram comercializadas nos EUA em 1997. A área comercial aumentou rapidamente, até alcançar em 2002, cerca de 2,5 milhões de hectares (JAMES, 2003).

Os híbridos tolerantes ao grupo das imidazolinonas são os mais utilizados, mas não apresentam dados animadores. Embora, a mistura de imazethapyr + imazapyr tenha proporcionado excelente opção no manejo de plantas daninhas, levando ao incremento do uso de híbridos tolerantes, em alguns casos as imidazolinonas causam fitotoxicidade na cultura em níveis inaceitáveis. Essa fitotoxicidade ocorre em função de diferenças nas características agrônômicas de cada híbrido e na adaptabilidade em diferentes ecossistemas, além de seletividade diferenciada para diferentes herbicidas do referido grupo químico. Assim, pode-se concluir que alguns híbridos apresentam diferentes graus de resistência cruzada aos herbicidas do grupo das imidazolinonas (OWEN, 1998).

Em relação ao herbicida *sethoxydin*, OWEN (1998) relatou que híbridos resistentes seriam mais uma estratégia no controle de algumas plantas daninhas, como *Panicum miliaceum* e *Agropyron repens*. Entretanto, poucas pesquisas foram feitas com esses híbridos em função de problemas como a resistência de plantas daninhas aos herbicidas do grupo dos inibidores da acetil coenzima A (ACCase) na cultura subsequente (WILCUT et al., 1996). Também foi concluído que a alternativa de híbridos resistentes ao glifosato e ao glufosinato seria uma boa estratégia de prevenção à resistência, entrando em um esquema de rotação com os inibidores da ACCase.

Soja

Já estão sendo comercializadas cultivares resistentes ao glifosato e aos herbicidas do grupo das sulfoniluréias (chlorimuron e thifensulfuron). Em breve também vão estar disponíveis variedades resistentes ao glufosinato. De todas essas, as variedades resistentes ao glifosato são as mais utilizadas (JAMES, 2003).

Segundo TRIGO (2003), na Argentina, cerca de 95% da soja plantada é geneticamente modificada, apresentando resistência ao glifosato. Trata-se do maior percentual de uma cultura geneticamente modificada em um único país. A explicação da alta porcentagem está em vários fatores. O primeiro é que a soja resistente ao glifosato possibilita uma importante redução nos custos de produção da lavoura (entre US\$ 20 e US\$ 25 por hectare). O segundo aspecto é a sinergia entre essas variedades e a aplicação de sistemas de plantio direto. Além disso, a combinação das duas tecnologias também permite o plantio de soja como segundo cultivo em muitas áreas onde antes esse tipo de atividade não era possível, levando, assim, a uma expansão da área disponível para agricultura.

Alguns pontos negativos são atribuídos ao uso de cultivares de soja resistentes ao glifosato. Para HARPER (1997), algumas cultivares resistentes têm baixo potencial genético de produção. Em alguns casos, a baixa produtividade é relacionada a injúrias do herbicida na soja. Outro ponto importante de acordo com FORCELLA (1999) é que culturas resistentes aos herbicidas afetam o banco de sementes das plantas daninhas. Segundo o mesmo autor, áreas cultivadas por dez anos com culturas resistentes tinham maior número de sementes no banco de sementes quando comparadas ao cultivo convencional. Porém, foram observadas, menor porcentagem de sementes viáveis e menor número de espécies dominantes.

Em relação às cultivares resistentes às sulfoniluréias, há grande resistência aos herbicidas chorimuron e thifensulfuron, em altas doses que, segundo FORNEY et al. citados por WILCUT et al. (1996), seriam necessários para o manejo de plantas daninhas mais problemáticas ao controle, como *Chenopodium album*, *Ipomoea* spp, etc. Segundo os autores, a mistura de herbicidas controla tais plantas daninhas melhor do que o controle sem a mistura. Entretanto, esses mesmos autores afirmam que apesar de todas as vantagens existe a preocupação com relação à resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS, que vem aumentando demasiadamente. Além disso, altas doses desses produtos poderiam levar a possíveis desvantagens para a rotação de culturas.

A principal crítica às culturas resistentes aos herbicidas está relacionada ao aumento da pressão de seleção sobre as plantas daninhas. Existe grande probabilidade de selecionar um biótipo de planta resistente ou uma espécie tolerante aos herbicidas quando culturas resistentes forem utilizadas em monocultura, devido ao uso intensivo de um mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo modo de ação (KRUSE et al., 2000). Com relação ao glifosato, por exemplo, embora não seletivo, várias espécies de plantas daninhas têm sido relatadas como tolerantes ao herbicida, tais como *Ambrosia artemisiifolia* (KAPUSTA et al., 1994), *Sesbania exaltata*, *Ipomoea* spp. (JORDAN et al., 1997; LICH et al., 1997), *Apocynum cannabinum* e *Asclepias syriaca* (WYRILL e BURNSIDE, 1976), *Commelina benghalensis* e *Richardia brasiliensis* (MONQUERO, 2003), entre outras. Além disso, recentemente foi registrada a ocorrência de biótipos resistentes ao glifosato em seis países, sendo de *Lolium multiflorum*, *Lolium rigidum*, *Eleusine indica*, *Conyza bonariensis*, *Conyza canadensis* e *Plantago lanceolata* (WEED SCIENCE, 2002). No Brasil, houve a seleção de biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes ao glifosato em áreas cultivadas com soja roundup ready, no Rio Grande do Sul.

Canola

Um dos maiores problemas da cultura da canola são as plantas daninhas. Os herbicidas hoje destinados para o manejo dessa cultura já estão com problemas, em função da ocorrência de mudanças na composição específica das plantas daninhas. Desta forma, a canola resistente seria uma grande opção de manejo.

Desde 1997, variedades de canola resistentes ao glufosinato e ao glifosato já eram comercializadas nos EUA e Canadá, e em 2003, a Austrália aprovou o plantio e a comercialização de canola modificada geneticamente (ANBIO, 2003). No passado, foram desenvolvidas variedades tolerantes às triazinas. Entretanto, seu cultivo não foi bem aceito por produzir 20 % a menos das cultivares comuns (BEVERSDORF e HUME, 1984).

Segundo HARKER (1997), as cultivares de canola resistentes ao glifosato e as imidazolinonas poderiam aumentar o risco de seleção de populações resistentes, já que esses herbicidas são intensivamente utilizados no Oeste do Canadá. Esse autor sugere que a utilização de cultivares tolerantes ao glufosinato seria boa opção para a prevenção da resistência, já que se mudaria o ingrediente ativo utilizado. Além disso, a frequência inicial de alelos conferindo resistência ao herbicida é baixa.

Quanto à aceitação, SHAW (1997) relata que esta é uma tecnologia otimista e que é uma grande opção para os produtores do Canadá, tanto em relação aos aspectos de manejo quanto no aspecto financeiro. Gerhard Prante, presidente mundial da Agrevo, citou como exemplo o caso da Canola LibertyLink resistente ao herbicida glufosinato, que os produtores canadenses costumavam aplicar duas a três vezes (1,5 kg de ingrediente ativo), para controlar as plantas daninhas. Já com o uso da variedade transgênica, a aplicação foi reduzida para uma (cerca de 500 g i.a./ha), diminuindo significativamente o uso de agroquímicos na lavoura e seu custo (AGREVO, 2000).

Algodão

O controle de plantas daninhas na cultura do algodão é mais difícil do que na maioria das outras culturas. Até 1996, o algodão, uma das mais importantes culturas nos EUA, não possuía um herbicida seletivo para ser aplicado em pós-emergência para o controle de folhas largas. Muitos produtos eram utilizados, mas causavam alguns problemas como atraso na maturação e redução na produção. Dessa forma, os produtores eram obrigados a usar misturas de dois ou de até três herbicidas,

aplicados no solo ou em jato dirigido sobre as daninhas, para conseguir um controle, nem sempre satisfatório (PAULSGROVE e WILCUT, 1999).

Atualmente, são comercializados nos EUA cultivares de algodão resistentes ao *bromoxynil* e ao glifosato (JAMES, 2003). O herbicida *bromoxynil* apresenta controle eficiente de plantas daninhas dicotiledôneas de ciclo anual, que representam um grande problema na cultura do algodão. Já o glifosato controla com grande eficiência dicotiledôneas e gramíneas de ciclo anual, além de algumas espécies perenes, embora seja necessário maior número de aplicações e em doses mais elevadas (WILCUT et al., 1996). PAULSGROVE e WILCUT (1999) concluíram que com o uso de *bromoxynil* houve melhor controle de plantas daninhas e que tal controle foi mais efetivo quando foram utilizadas misturas com o herbicida arsenical orgânico- MSMA.

Arroz

O arroz vermelho é ainda uma das piores plantas daninhas da cultura do arroz. Até o momento, o manejo dessa espécie é feito por meio de práticas culturais e irrigação nos diferentes sistemas de plantio dessa cultura. Dessa forma, segundo WILCUT et al. (1996), seria de grande utilidade aos produtores a existência de cultivares resistentes a herbicidas.

Existem atualmente cultivares de arroz que contém o gene *bar* que confere resistência ao glufosinato de amônio, com excelente adequação ao manejo, controlando com sucesso o arroz vermelho (LILGE et al., 2003). Por outro lado, o arroz vermelho ou outras espécies nativas de arroz podem adquirir, por transferência, o gene de resistência ao herbicida. Embora cruzamentos sejam raros e mesmo sabendo-se que o herbicida não é atualmente usado no arroz, há necessidade de precaução e de ensaios regionais (AZEVEDO et al., 2000).

9. ASPECTOS POLÍTICOS NA LIBERAÇÃO DE OGMs

Em 1995, o Congresso Nacional aprovou uma lei exemplar, a lei 8.974/95, que estabeleceu os princípios gerais da Biossegurança no Brasil. O seu princípio geral, comum à legislação dos demais países, é que ao se tratar da liberação no ambiente de OGM, a avaliação e o controle de risco devem ser feitos caso a caso através de análises científicas.

A lei de Biossegurança estabeleceu a criação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança/CTNBio, que vinculada ao Ministério da Ciência e Tecnologia, regulamenta a manipulação, cultivo, transporte, comercialização, consumo, liberação e descarte de OGM, visando proteger a vida, a saúde e o bem estar do homem, animais e ambiente (GANDER, 1996).

A CTNBio é composta por 18 membros entre titulares e 18 suplentes. São 8 especialistas no segmento de Biotecnologia, sendo 2 da área humana, 2 da área animal, 2 da área vegetal e 2 da área ambiental. Há também, representantes dos seguintes ministérios: Ciência e Tecnologia, Justiça, Saúde, Ambiente, Educação e Agricultura. Completando a comissão, há um representante do órgão de defesa do consumidor, um representante de associações legalmente constituídas, um representante do setor empresarial de Biotecnologia e um representante de órgão de proteção à saúde (MCT, 2000).

O questionário técnico a ser respondido, para que haja a liberação no ambiente de um OGM, é composto por questões centrais e específicas, dependendo do tipo de OGM a ser liberado. Entre as questões centrais pode-se citar: informações a respeito do organismo a ser liberado, a origem do DNA inserido e habitat e ecologia do organismo. São exigidas também informações sobre o mapa genético da construção, caracterização da modificação genética, dados sobre estabilidade do organismo e mecanismos de fluxo gênico.

No caso de questões específicas, a CTNBio exige informações sobre plantas, microorganismos que vivem associados a este OGM, microorganismos utilizados como vacina de uso veterinário, microorganismos que modificam propriedades do solo, entre outras. Somente após a análise dessas informações e dados técnicos pela CTNBio é que o OGM poderá ou não ser liberado no ambiente. Somente após a análise de inúmeros ensaios planejados no ambiente é que a CTNBio emite seu parecer a respeito da comercialização desse produto, que passará ainda, pelas exigências dos Ministérios da Agricultura, Saúde e Meio Ambiente (MCT, 2000).

O Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB), a que se refere o 3.º item do 2.º artigo da lei número 8974/95, é necessário às entidades nacionais ou internacionais para que possam desenvolver atividades relativas aos OGM e derivados, devendo ser requerido pelo proponente e emitido pelo CTNBio. No Brasil cerca de 103 instituições possuem CQB para trabalharem com plantas transgênicas (CTNBio, 2002).

Toda entidade que utiliza técnicas e métodos de engenharia genética deverá criar uma Comissão Interna de Biossegurança (CIBIO), além de indicar para cada projeto específico um(a) pesquisador(a) principal, definido na regulamentação como técnico principal responsável. Dentre as responsabilidades do CIBIO está a avaliação e revisão de todas as propostas de pesquisas em engenharia genética, manipulação, produção e transporte de OGM, identificação de todos possíveis riscos aos pesquisadores, à comunidade e ao ambiente e elaboração de recomendações aos pesquisadores sobre estes riscos e como manejá-los (BRASILEIRO et al., 1997).

Em 2003, o governo brasileiro editou a Lei de Biossegurança, já aprovada na Câmara, que regulamenta a pesquisa e a comercialização de organismos geneticamente modificados. Ela cria o Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS), órgão vinculado à Presidência da República, que terá como missão autorizar, em última instância, as atividades que envolvem o uso comercial dos transgênicos e seus derivados. Caberá à CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança emitir pareceres técnicos sobre o assunto (AGÊNCIA BRASIL, 2004).

Em março de 2005, o Presidente Luiz Inácio Lula da Silva finalmente sancionou a nova Lei de Biossegurança (11.105, de 24/3/2005), que regulamenta definitivamente o plantio e a comercialização das variedades transgênicas. O texto final aprovado afirma que toda e qualquer empresa que desejar plantar e/ou comercializar uma variedade transgênica necessita submeter um pedido à CTNBio, que deverá emitir seu parecer. Caso seja favorável à liberação, o parecer será confirmado ou rejeitado pelo CNBS, composto por nove Ministros e um Secretário Especial. Dessa forma, a nova lei retira a obrigatoriedade de realização de estudos de impactos ambientais e sobre a saúde humana, cabendo à CTNBio solicitá-los ou não. A lei também retira a competência dos Ministérios da Saúde e do Meio Ambiente, que antes tinham o poder de exigir a realização desse tipo de estudos e avaliar os impactos que a liberação da variedade transgênica poderiam trazer para suas áreas de atuação (AGÊNCIA BRASIL, 2005).

REFERÊNCIAS

- ABUD, S.; SOUZA, P.I.M.; MOREIRA, C.T.; FARIA NETO, A.L.; VIANNA, G.R.; ANDRADE, R.M.A.; NUNES JUNIOR, J.; RECH, E.L.; MONTEIRO, P.M.; ARAGÃO, F.J.L. Dispersão de pólen em soja transgênica na região do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.10, p.1229-1235, 2003.
- ABDULLAH, R.; COCKING, E.C.; THOMPSON, J.A. Efficient plant regeneration from rice protoplasts through somatic embryogenesis. **Bio/Technology**, New York, v.4, p. 1087-1090, 1985.
- AGÊNCIA BRASIL. **Ministro da agricultura acredita na aprovação da lei de biossegurança em agosto**. Disponível em: http://www.ambientebrasil_ambientenoticias.htm. Acesso em 26 de agosto de 2004.
- AGÊNCIA BRASIL. **O contexto político dos transgênicos no Brasil**. 2005. Disponível em : http://www.ambientebrasil_ambientenoticias.htm. Acesso em 10 de abril de 2005.
- AGREVO. **The liberty link system**. 2004. Disponível em: http://www.agrevo.com/biotech/os_11_dahtm. Acesso em 13 de setembro de 2004.
- ANBIO. **Boletim informativo do Centro Mundial de Conhecimento Agrícola em 2003**. Disponível em : <http://www.anbio.org.br>. Acesso em 15 de agosto de 2004.
- ANDRADE FILHO, G.; BERGER, G.U.; FAVORETTO, L.R.G.; LAVARIK, P.B. Soja roundup ready: estudo piloto de avaliação ambiental no Brasil. **Documentos Monsanto**, São Paulo, 2003. 38p.
- ARAGÃO, F.J.L.; SÁ, M.F.G.DE.; ALMEIDA, E.R.; GANDER, E.S.; RECH, E.L. Particle bombardment mediated expression of a Brazil nut methionine-rich albumin in bean (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Plant Molecular Biology**, Tucson, v.20, p.357-359, 1992.
- AVERY, D.T. Why we need food biotechnology? **Food Technology**, Chicago, v.54, p.132-136, 2000.
- AZEVEDO, J. L.; FUNGARO, M. H. P.; VIEIRA, C. M. L. Transgênicos e evolução dirigida: História, Ciências, Saúde **Manguinhos**, São Paulo, v.7, n.2, p. 451-64, jul. out. 2000.
- BEVERSDORF, W.D.; HUME, D.J. Triton spring rape. **Canadian Journal Plant Science**, Ottawa, v. 64, p. 1007-1012, 1984.
- BOWEN, B.A. Markers for plant gene transfer. In: KUNG, S.; WU, R. (Eds.). **Transgenic plants**. San Diego: Academic Press, 1993, v.1, p. 89-123.
- BRASILEIRO, C.A.; CARNEIRO, V.T. Introdução à transformação genética de Plantas. In: BRASILEIRO, C.A.; CARNEIRO, V.T. (Eds.). **Manual de Transformação Genética de Plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa Cenargem, 1997. cap 1, p.13-15.
- BURNSIDE, O.C. Rationale for developing herbicide resistant crops. **Weed Technology**, Champaign, v.6, n.3, p.621-625, 1992.
- CASAFE. **Câmara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes**. 2004. Estadísticas. Disponível em: <http://www.casafe.org.ar/mediciondemercado.html>. Acesso em 23 de maio, 2004.
- CANASCA, H. **Monsanto: lucro cresce 142% no primeiro trimestre fiscal, para US\$ 373 mi**. Disponível em: <http://www.estadao.com.br/agronegocios/noticias/2005/abr/06/48.htm>. Acesso em 6 de abril de 2005.

- CHANG, D.C. Cell poration and cell fusion using an oscillating electric field. **Biophysics Journal**, Bethesda, v.56, p. 641-652, 1989.
- CLEENE, M. de; LEY, J. de. The host range of crow gall. **Botanical Review**, New York, v.42, p. 389-464, 1976.
- CTNBio. **Relatório 2002 da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança**. Disponível em : http://www.ctnbio.gov.br/ctnbio/agenda/Rel_2002.htm. Acesso em 14 de agosto de 2004.
- DARMENCY, H.; PERNES, J. Agronomic performance of triazine resistant foxtail millet. **Weed Research**, Oxford, v.27, p.147-150, 1989.
- DOEBLEY, J. Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. **Bioscience**, Washington, v.40, p.443-448, 1990.
- DYER, W.E.; HESS, F.D.; HOLT, S.S.; DUKE, S.O. Potential benefits and risks of herbicide-resistance crops produced for biotechnology. **Hortscience Review**, Virginia, v.15, p.367-371, 1993.
- EVANS, D.A.; SHARP, W.R. Applications of somaclonal variation. **Bio/Technology**, New York, v.4, p. 528-532, 1986.
- FALCO, S.C.; MCDEVET, R.E.; CHUI, C.F.; KNOWLTON, S.; MAUVAIS, C.J.; SMITH, J.K. E MAZUR, B.J. Engineering herbicide resistant acetolactate-synthase. **Journal of Industrial Microbiology**, Boston, v.30, n.4, p.187-194, 1989.
- FAO. The state of food and agriculture. Roma: 2000. 42p. (Agricultural Series, n. 32)
- FAO/OMS. Biotechnology and food safety. Roma, 1996, 31p. (Report FAO Food nutrition paper, n. 61)
- FILLATTI, J.J.; KISER, J.K.; ROSE, R.; COMAI, L. Efficient transfer of a glyphosate tolerance gene into tomato using a binary *Agrobacterium tumefaciens* vector. **Bio/Technology**, New York, v.5, p.726-730, 1987.
- FORCELLA, F. Weed seed bank dynamics under herbicide tolerant crops. **Proceedings of the 1999 Brighton Conference-Weeds**, Brighton, p.409-417, 1999.
- FORNEY, D.R.; SEBASTIAN, S.; FABER, G.M.; ULRICH, J. Development of sulfonylurea-resistance soybeans and associated weed control options. **Weed Science Society American. Abstract**, Champaign, v. 29, p.176, 1989.
- FROMM, M.E.; MORRISH, F.; ARMSTRONG, C.; WILLIAMS, R.; THOMAS, J.; KLEIN, T.M. Inheritance and expression of chimeric genes in the progeny on transgenic maize plants. **Bio/Technology**, New York, v.8, p. 833-842, 1990.
- FROMM, M.E.; TAYLOR, L.P.; WALBOT, V. Expression of genes transferred into monocot and dicot plant cell by electroporation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Iowa, v.82, p. 5824-5828, 1985.
- GANDER, E.S.; MARCELLINO, L.H.; ZUMSTEIN, P. **Biotecnologia para pedestres**. Brasília: Embrapa - SPI, 1996. 66p.
- GIANESSI, L.P.; SILVERS, C.S.; SANKULA, S.; CARPENTER, J.E. **Plant biotechnology: current and potential impact for improving pest management in US agriculture**. An analysis of 40 case studies. Washington, DC: National Center for Food and Agricultural Policy, 2002.
- GIAQUINTA, R.T. An industry perspective on herbicide tolerant crops. **Weed Technology**, Champaign, v.6, n.3, p.653-656, 1992.
- GOLDBURG, R.J. Environmental concerns with the development of herbicide tolerant plants. **Weed Technology**, Champaign, v.6, n.3, p.647-652, 1992.
- HALL, L.M.; HUFFMAM, J.; TOPINKA, K. Pollen flow between herbicide tolerant canola (*Brassica napus*) is the cause of multiple resistant canola volunteers. **Proceedings of the Weed Society of América**, Iowa, v. 40, 2000.
- HARKER, K N. Herbicide tolerant canola - research perspective. **Proceedings of the Western Society of Weed Science**, Minneapolis, p.9. 1997.
- HARPER, D. In the field with herbicide resistant crops: Roundup Ready soybeans. **Proceedings of the Western Society of Weed Science**, Minneapolis, p.8. 1997.
- HARRISON, D. Developing herbicide tolerant crop cultivars: introduction. **Weed Technology**, Champaign, v.6, n.3, p.613-614, 1992.
- HUANG, B. Genetic manipulation of microspores and microspore-derived embryos. **In Vitro Cell**, Largo, n.26, p. 53-57, 1992.
- HUGHES, K. Selection for herbicide resistance. *In*: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V. (Eds.). **Handbook of Plant Cell Culture**, 1.ed. New York, 1983. p. 442-460.1983.
- IFT EXPERT REPORT. Human food safety evaluation of r DNA biotechnology derived foods. **Food Technology**, Chicago, v.54, n.9, p. 53-61, 2000.
- JAMES, C.A. **Global review of commercialized transgenic crops**. Ithaca: International Service for the Acquisition of Agri-biotechnology application, 2003. Disponível em : http://www.ista.org/publications/briefs_24.htm. Acesso em 20 de agosto de 2004.
- JORDAN, D.L.; YORK, A.C.; GRIFFIN, J.L.; CLAY, P.A.; VIDRINE, P.R.; REYNOLDS, D. B. Influence of application variables on efficacy of glifosato. **Weed Technology**, Champaign, v.11, p.354-362, 1997.
- KNAKE, E.L. Technology transfer for herbicide tolerant weeds and herbicide tolerant crops. **Weed Technology**, Champaign, v.6, n.3, p.662-664, 1992.
- KAPUSTA, G., KRAUZ, R. F.; MATTHEWS, J. L. Soybean tolerance and summer annual weed control with glufosinate and glifosato in resistant soybean. **Weed Science**, Champaign, v.49, p.120-124, 1994.

- KING, C.A.; PURCEL, L.C.; VORIES, E.D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, p. 179-186, 2001.
- KLEIN, T.M.; ARENTZEN, R.; LEWIS, P.A.; FITZPATRICK-McELLIGOTT, S.F. Transformation of microbes, plants and animals by particle bombardment. **Biotechnology**, New York, v.10, p. 286-291, 1992.
- KRUSE, N.D.; TRESSI, M.M.; VIDAL, R.A. Herbicidas inibidores da EPSPs: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Brasília, n.1, v. 2, p.139-146, 2000.
- KUIPER, H.A.; KLETER, G.A.; NOTEBORN, H.P.J.; KOK, E.J. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. **The Plant Journal**, Oxford, v. 27, n. 6, p. 503-528, 2001.
- LAJOLO, F.M.; NUTTI, M.R. **Transgênicos: bases científicas da sua segurança**. São Paulo: SBAN, 2003, 112p.
- LANGVIN, S.A.; CLAY, K.; GRACE, H.B. The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed, red rice (*Oryza sativa* L). **Evolution**, Lawrence, v.44, p. 100-110, 1990.
- LI, Z.; HAYASHIMOTO, A.; MURAI, N. A sulfonylurea herbicide resistance gene from *Arabidopsis thaliana* as a new selectable marker for production of fertile transgenic rice plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v.100, p. 62-70, 1992.
- LICH, J. M.; RENNER, K. A.; PENNER, D. Interaction of glifosato with post emergence soybeans (*Glycine max*) herbicides. **Weed Science**, Champaign, v.45, p. 12-21, 1997.
- LYSON, T. Advanced agricultural biotechnologies and sustainable agriculture. **Trends in Biotechnology**, Oxford, v.20, p. 15-19, 2002.
- LILGE, C.G.; TILLMANN, M.A.; VILLELA, F.A. Identificação de sementes de arroz resistentes ao herbicida glufosinato de amônio. **Revista brasileira de sementes**, Brasília, v. 25, p. 87094, 2003.
- MALLORY-SMITH, C.A.; THILL D.C.; DIAL, M.J. Inheritance of sulfonylurea herbicide resistance in *Lactuca* spp. **Weed Technology**, Champaign, v. 4, p. 787-790, 1990.
- MCT. **Biossegurança CTNBio, Transgênicos. 2000**. Disponível em: <http://www.mct.org.br>. Acesso em 1 de agosto de 2003.
- MONQUERO, P.A. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glifosato**. Piracicaba, 2003. 99p. Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ/USP.
- MONSANTO. **Milho NK603**. 2003. Disponível em: http://www.monsanto.es/novedad/nk603_resumo.pdf. Acesso em 25 de agosto 2004.
- NEWHOUSE, K.E.; SINGH, B.; SHANER, D. Mutations to corn (*Zea mays*) conferring resistance to imidazolinone herbicides. **Theoretical Applied Genetic**, Berlin, v. 83, p. 65-70, 1991.
- OWEN, M.D.K. **North American developments in herbicide tolerant crops**. 1998. Disponível em: <http://www.weeds.iastate.edu/>. Acesso em 15 de fevereiro de 2000.
- PADGETTE, S.R.; REDDY, D.B.; BARRY, G.F.; EICHHOLTZ, D.E.; DELANNAY, X.; FUCHS, R.L.; KISHORE, G.M.; FRALEY, R.T. New weed control opportunities: development of soybeans with a roundup ready gene. In: DUKE, S.O (Ed.). **Herbicide resistente crops: agricultural, economic, environmental, regulatory and technological aspects**. Boca Raton, FL.: CRC Press, 1996, p. 53-84.
- PANIS, B.; WAUWE, A.; SWNNEN, R. Plant regeneration through direct somatic embryogenesis from protoplast of banana (*Musa* spp.). **Plant Cell Reports**, Tokyo, v.12, p.403-407, 1993.
- PAPA, J.C.M.; FELIZIA, J.C.; ESTEBÁN A.J. Cambios en la flora de malezas como consecuencia del cambio tecnologico en Argentina: malezas novedosas que pueden afectar el cultivo de la soya. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA E MERCOSOJA, 2., Foz de Iguacu, 2002. **Anais**. Foz de Iguacu, EMBRAPA, 2002. p. 346-354.
- PARKER, W.B.; SOMER, D.A.; WYSE, D.L.; KEITH, R.A.; BURTON, J.D.; GRONWALD, J.W. Selection and characterization of sethoxydim-tolerant maize tissue cultures. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 92, p. 1220-1226, 1990.
- PAULSGROVE, M.D.; WILCUT, J.W. Weed management in bromoxynil-resistance *Gossypium hirsutum*. **Weed Science**, Champaign, v.47, p. 596-601, 1999.
- PLINE W.A.; VIATOR R.; WILCUT J.W.; EDMISTEN K.L.; THOMAS J.; WELLS R. Reproductive abnormalities in glyphosate-resistant cotton caused by lower CP4-EPSPs levels in the male reproductive tissue. **Weed Science**, Champaign, v. 50, p.438-447, 2002.
- RADOSEVICK, S.R.; GHERSA, C.M. COMSTOCK, G. Concerns a weed scientist might have about herbicide tolerant crops. **Weed Technology**, Champaign, v.6, n.3, p.635-639, 1992.
- RITCHIE, S.W.; HODGES, T.K. Cell culture and regeneration of transgenic plants. . In: KUNG, S.; WU, R. (Eds.). **Transgenic plants**. San Diego: Academic Press, 1993, v.1, p. 147-178.
- RUHLAND, M.; ENGENLHARDT, G.; PAWLING, K. Distribution and metabolism of glufosinate in transgenic glufosinate tolerant crops of maize and oilseed rape. **Pesticide Management**, London, v. 60, p. 691-696, 2004.
- SALOMON, M. Direito sobre transgênico chega a US\$ 100 mil. **Folha de São Paulo**, 6 outubro de 2003.
- SANFORD, J.C.; KLEIN, T.M.; WOLF, E.D.; ALLEN, N. Delivery of substance into cells tissues using a particle bombardment process. **Particle Science Technology**, Philadelphia, v.5, p.27-37, 1987.
- SANFORD, J.C.; SMITH, F.D.; RUSSEL, J.A. Optimizing the biolistic process for different biological applications. In: WU, R. (Ed.). **Recombinant DNA- Part H**. San Diego: Academic Press, 1993. p. 483-510.

- SHAW, C. Herbicide tolerant canola, a farmer perspective. **Proceedings of the Western Society of Weed Science**, Champaign, v. 43, p.11-12, 1997.
- SAGPyA –SAGPyA **Secretaría de Agricultura, Granadería, Pesca y Alimentos**. FOB oficiales. October 2004. Disponível em: <http://www.sagpya.gov.ar/new/0-0/agricultura/diario/fobanto/fob.htm>. Acesso em 26 de maio de 2004.
- SWANSON, E.B.; COUMANS, M.P.; BROWN, G.L.; PATEL, J.D.; BEVERSDORF, W.D. The characterization of herbicide tolerant plants in *Brassica napus* L. after in vitro selections of microspores and protoplasts. **Plant Cell**, Rockville, n. 7, p. 83-92, 1988.
- SIMÕES, C.R. Eles estão entre nós. **Veja**. p.66-67, 1999, Junho.
- SIQUEIRA, J.O.; TRANNUM, J.C. de B.; RAMALHO, M.A.P.; FONTES, E.M.G. Interferência no agroecossistema e riscos ambientais de culturas transgênicas tolerantes aos herbicidas e protegidas de insetos. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, Brasília, v.21, p. 11-81, jan/abril, 2004.
- TAUER, L.W.; LOVE, J. The potential economic impact of herbicide resistant corn in the USA. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v.2, n.3, p.202-208, 1989.
- TORRES, A.C.; NAGATA, R. T.; FERL, R. J.; BEWICK, T. A.; CANTLIFFE, D. J. In vitro assay selection of glifosato resistance in lettuce. **American Society Horticultural Science**, Columbus, v.124, n.1, p.86-89, 1999.
- TRIGO, E. **Los transgenicos en la agricultura argentina**. In: GLOBAL BIOTECHNOLOGY FORUM – BIOINDUSTRIES IN DEVELOPMENT, Brasília, 22-25 julho, 2003.
- TUBEROSA, R.; LUCHESE, C. Selection of maize cell lines tolerant to the nonselective herbicide. **Chimica Oggi**, Milão, v. 8, n.12, p. 43-47, 1990.
- VASLIN, M. **Transformação genética de batata (*S. tuberosum* L.)**. 1993. 98p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Rio de Janeiro-Departamento de Genética, Rio de Janeiro.
- VIDAL, R.A. **Herbicidas: Mecanismo de ação e Resistência de plantas**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1997. 165p
- WALDEN, R.; KONCZ, C.; SCHELL, J. The use of gene vectors in plant molecular biology. **Methods in Molecular and Cellular Biology**, New York, v.1, p. 175-195, 1990.
- WEED SCIENCE. **International survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: <http://www.Weedsience.org/en.asp>. Acesso em 1 de agosto de 2004.
- WIESE, D.L. Future impact of crops with modified herbicide resistance. **Weed Technology**, Champaign, v.6, n.3, p.665-668, 1992.
- WIERSMA, P.A.; SCHMIEMANN, M.G.; CONDIE, J.A.; CROSBY, W.L.; MALONEY, M.M. Isolation, expression and phylogenetic inheritance of an acetolactate synthase gene from *Brassica napus*. **Molecular Genetic**, Madison, v. 219, p. 413-420, 1989.
- WILCUT, J.W.; COBLE, H.D.; YORK, A.C.; MONKS, D.W. The niche for herbicide-resistance crops in US agriculture. In: DUKE, S.O. (Ed.). **Herbicide resistance crops - agricultural, environmental, economic, regulatory, and technical aspects**. Boca Raton, FL.: CRC Press, 1996. p. 213-230.
- WILSON, H.D. Gene flow in squash species. **BioScience**, Washington, v. 40, p. 449-453, 1990.
- WYRILL, J.B. III.; BURNSIDE, O.C. Absorption, translocation and metabolism of 2,4-D and glifosato in common milkweed and hemp dogbane. **Weed Science**, Champaign, v.24, p.557-566, 1976.
- ZUPAN, J.R.; ZAMBRYSKI, P. Transfer of T-DNA from Agrobacterium to the plant cell. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 107, p. 1041, 1047, 1995.