



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Arroz e Feijão
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1678-9644

Dezembro, 2008

Documentos 232

Perspectivas da utilização do gene *bt* para o controle de insetos-praga do arroz no Brasil

Adriano Pereira de Castro

Santo Antônio de Goiás, GO
2008

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Arroz e Feijão

Rod. GO 462, Km 12
Caixa Postal 179
75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO
Fone: (0xx62) 3533 2100
Fax: (0xx62) 3533 2123
sac@cnpaf.embrapa.br
www.cnpaf.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Luís Fernando Stone*
Secretário: *Luiz Roberto Rocha da Silva*

Supervisor editorial: *Camilla Souza de Oliveira*
Normalização bibliográfica: *Ana Lúcia D. de Faria*
Revisão de texto: *Camilla Souza de Oliveira*
Capa: *Fabio Noletto*
Editoração eletrônica: *Fabiano Severino*

1ª edição

1ª impressão (2008): 500 exemplares

Todos os direitos reservados.

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Arroz e Feijão

Castro, Adriano Pereira de.

Perspectivas da utilização do gene *bt* para o controle de insetos-praga do arroz no Brasil / Adriano Pereira de Castro. - Santo Antônio de Goiás : Embrapa Arroz e Feijão, 2008.

43 p. - (Documentos / Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1678-9644 ; 232)

1. Arroz - Engenharia genética. 2. Arroz - Melhoramento genético. 3. Arroz - Resistência a praga. I. Título. II. Embrapa Arroz e Feijão. III. Série.

CDD 633.18233 (21. ed.)

© Embrapa 2008

Autores

Adriano Pereira de Castro

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Genética e
Melhoramento do Arroz

Pesquisador

Embrapa Arroz e Feijão

Rod. GO 462, Km 12

75375-000 Santo Antônio de Goiás - GO

apcastro@cnpaf.embrapa.br

Apresentação

A Embrapa é responsável desde 1976 pelo programa nacional de melhoramento do arroz (*Oryza sativa*), com mais de 60 variedades lançadas, adaptadas às mais diferentes condições climáticas e de solo em todo o território nacional. Essas variedades foram desenvolvidas a partir de métodos clássicos de melhoramento de plantas e, mais recentemente, a partir da combinação desses métodos com ferramentas da biotecnologia. Com a evolução da biologia molecular e das análises estatísticas, a biotecnologia tornou-se um componente importante dos programas de melhoramento do arroz em todo o planeta.

Dentre as ferramentas que a biotecnologia oferece para o melhoramento de plantas, a transformação genética ou transgenia é a que tem sido empregada com maior sucesso. A transgenia complementa o programa com a possibilidade de inserção de genes antes não disponíveis ao melhoramento. Variedades transgênicas contendo o gene bt, por exemplo, que confere resistência a insetos, são plantadas de maneira significativa em vários países. Os resultados do emprego comercial dessa tecnologia há mais de uma década em culturas como o milho e o algodão têm demonstrado enorme potencial econômico, social e ecológico.

Atenta à evolução no melhoramento de plantas, a Embrapa se prepara para uma nova era no melhoramento genético do arroz no Brasil por meio da utilização da transgenia. O objetivo desta publicação é revisar a situação atual da tecnologia dos transgênicos bt, com vistas à introdução dessa característica no programa de melhoramento de arroz da Embrapa.

Pedro Antônio Arraes Pereira
Chefe-Geral da Embrapa Arroz e Feijão

Sumário

Introdução	9
Melhoramento visando resistência a insetos-praga	11
Melhoramento convencional	11
Engenharia genética	13
A bactéria <i>Bacillus thuringiensis</i>	16
Evolução na utilização do <i>bt</i>	18
Resistência a insetos através de genes <i>bt</i>	19
Algodão <i>bt</i>	19
Milho <i>bt</i>	21
Arroz <i>bt</i>	24
Biossegurança das variedades <i>bt</i>	27
Áreas de refúgio	29
Segurança Alimentar	31
Fluxo Gênico	31
Considerações finais	32
Referências	33

Perspectivas da utilização do gene *bt* para o controle de insetos-praga do arroz no Brasil

Adriano Pereira de Castro

Introdução

Na última década, a produção agrícola brasileira teve um enorme impulso. A produção de grãos no país aumentou significativamente, chegando a 145 milhões de toneladas no ano de 2008 (AGRIANUAL, 2009). Isso é resultado da crescente utilização de tecnologias modernas, sobretudo as associadas a programas de melhoramento de plantas, que vêm gerando variedades mais adaptadas às diversas condições ambientais e de cultivo no Brasil.

Os seguidos recordes de produção de grãos foram atingidos através da adoção de uma agricultura baseada na monocultura de larga escala, a qual é responsável por considerável desequilíbrio ambiental. No lugar da vegetação que se desenvolveu por milênios, a substituição da diversidade natural de plantas, em milhões de hectares por uma ou poucas espécies, tornou inevitável o surgimento de pragas e doenças, que encontram nas plantas alimento farto e condição de reprodução.

Estima-se que as perdas provocadas por pragas e doenças na agricultura mundial atinjam 37% da produção, dos quais, 13% são devidos a insetos (SILVA-FILHO; FALCO, 2001). Os atuais métodos de proteção das lavouras permanecem restritos, predominantemente, ao uso de agroquímicos. Entretanto, a necessidade do desenvolvimento de uma agricultura mais "amigável", com menor consumo de energia, menor contaminação dos trabalhadores e dos mananciais hídricos e baixos efeitos residuais nos alimentos, têm motivado a

busca de novas tecnologias para a obtenção de resistência a insetos e doenças. A estratégia mais eficaz e econômica de controle de doenças e insetos é a utilização de variedades geneticamente resistentes, porém, nem sempre a variabilidade genética da cultura inclui fontes efetivas de resistência.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) coordena programas de melhoramento genético de diversas espécies de relevância econômica e social para o país. Em 1976, iniciou na Empresa o programa de melhoramento do arroz (*Oryza sativa*), alimento básico da população brasileira. Este programa já contabiliza mais de 60 variedades lançadas, adaptadas às mais diferentes condições climáticas e de solo, sendo cultivadas em todo o território nacional sob diferentes condições de cultivo.

O arroz é o cereal de maior importância para o consumo humano, sendo fonte primária de alimento para mais da metade da população mundial, representando, em alguns países asiáticos, mais de 70% das calorias ingeridas diariamente (KHUSH, 2005). Além disso, constitui uma importante fonte de proteínas, pois possui oito aminoácidos essenciais à dieta humana (CASTRO et al., 1999). Com uma área plantada de mais de 150 milhões de hectares e uma produção anual aproximada de 610 milhões de toneladas, o cultivo do arroz ocupa em torno de 11% da superfície agricultável do planeta. O Brasil é o maior produtor de arroz fora do continente asiático, com uma produção total de 12,1 milhões de toneladas no ano de 2008 (AGRIANUAL, 2009). O arroz é cultivado em todo o território nacional, sendo dois os sistemas básicos de produção: arroz irrigado e de terras altas.

O programa de melhoramento genético do arroz da Embrapa prioriza o desenvolvimento de variedades com resistência a insetos e doenças, boa qualidade dos grãos, alta produtividade, resistência à seca, maior eficiência na utilização de nutrientes do solo e resistência a herbicidas. Essas características foram melhoradas através de métodos clássicos, como o método genealógico, o retrocruzamento e a seleção recorrente. Entretanto, para algumas características, como por exemplo, resistência a insetos, este tipo de metodologia tem sido pouco eficiente. Nestes casos, métodos biotecnológicos, como a transformação genética de plantas ou transgenia, podem ser utilizados para a concepção de variedades transgênicas de arroz. A transgenia complementa o programa com a possibilidade de inserção de genes antes não disponíveis ao melhoramento (CASTRO, 2005).

O melhoramento genético do arroz através das modernas técnicas de engenharia genética tem se intensificado no mundo. Variedades transgênicas resistentes a herbicidas, a insetos-praga e com melhor valor nutricional estão em processo de liberação para plantio comercial. Espera-se nos próximos anos o lançamento de uma série de novos eventos transgênicos para outras características. A China, por exemplo, maior produtor e consumidor de arroz, tem quatro eventos transgênicos em fase final de avaliação: dois deles, arroz *bt*, que confere resistência a insetos (CYRANOSKI, 2005; HUANG et al., 2007).

No período de 1996 a 2007, a área acumulada cultivada com plantas transgênicas ultrapassou 690 milhões de hectares, fazendo das cultivares transgênicas a tecnologia agrícola de mais rápida adoção dos últimos tempos. Hoje, estima-se que mais de dois bilhões de pessoas consumam transgênicos em todo o mundo, sem nenhum registro de dano para a saúde humana ou animal (JAMES, 2007). Esses resultados são considerados por instituições reconhecidas mundialmente, como a Organização para Alimentos e Agricultura (FAO/ONU) e a Organização Mundial da Saúde (OMS).

O Brasil reteve sua posição como terceiro maior país a aderir às lavouras geneticamente modificadas (GM) no mundo, estimando-se em 15,0 milhões de hectares, dos quais 14,5 milhões de hectares foram cultivados com soja resistente a herbicida e 500.000 hectares com o algodão *bt*, cultivado pela segunda vez em 2007.

Atenta à evolução no melhoramento de plantas, a Embrapa se prepara para uma nova era no melhoramento genético do arroz no Brasil através da utilização da transgenia. O objetivo desta publicação é revisar a situação atual da tecnologia dos transgênicos *bt*, com vistas à introdução desta característica no programa de melhoramento de arroz da Embrapa.

Melhoramento visando resistência a insetos-praga

Melhoramento convencional

O uso de variedades resistentes a insetos-praga é provavelmente o método mais desejável e ecologicamente adequado para seu controle por manter a população desses organismos abaixo do nível de dano econômico, sem causar

danos ou distúrbios ao meio ambiente e, ainda, sem trazer ônus adicional ao agricultor. Além disso, a facilidade de utilização, a não interferência nas demais práticas culturais e o fato de normalmente apresentar compatibilidade com outros métodos de controle, torna esta técnica adequada para ser incorporada em programas de manejo integrado de pragas (VENDRAMIM; NISHIKAWA, 2001).

O desenvolvimento de variedades resistentes a insetos segue os mesmos procedimentos de um programa de melhoramento convencional, com a diferença de que, a cada etapa do melhoramento, são realizadas inoculações artificiais ou exposição das populações ou linhagens em avanço de gerações a insetos específicos para os quais se quer selecionar resistência. O processo passa pela seleção de plantas resistentes em meio a uma população suscetível e evolui para cruzamentos específicos para agregação desta característica em variedades já melhoradas. No melhoramento para resistência a insetos, o que há de particular é a ênfase que é dada à escolha específica de pelo menos um genitor, que deve ter genes de resistência ao inseto e a avaliação da reação das progênes frente aos insetos.

Apesar da resistência varietal a insetos ser uma estratégia de grande importância no manejo integrado de pragas, uma série de dificuldades tem inviabilizado o lançamento de novas variedades com alto nível de resistência. O longo tempo necessário para a obtenção de variedades resistentes e, ao mesmo tempo, produtivas, a especificidade dos fatores de resistência que, em alguns casos, atuam contra apenas uma espécie de inseto, podendo mesmo aumentar a população de outras pragas, e a possibilidade de perda de resistência pela adaptação do inseto ao material resistente, dificultam a obtenção de variedades resistentes (VENDRAMIM; NISHIKAWA, 2001).

No que se refere aos insetos, são necessários muitos conhecimentos prévios antes de se iniciar qualquer programa de melhoramento visando à obtenção de resistência varietal. Essas informações são relativas tanto aos insetos quanto às plantas hospedeiras, bem como às interações praga-planta, que são obtidas em programas de pesquisa específicos, tornando imprescindível a associação entre entomologistas, melhoristas e pesquisadores de áreas afins. Além disso, mesmo com um programa bem planejado e uma equipe multidisciplinar de pesquisadores, a obtenção de uma variedade resistente pode levar anos, devido ao fato de as fontes de resistência serem, na maioria das vezes, variedades não adaptadas e sem valor comercial, sendo necessários métodos especiais para a

introdução do caráter resistência em variedades melhoradas. Outro complicador é a ocorrência de pleiotropia ou de arraste gênico, o que pode resultar, por exemplo, na perda de qualidade ou produtividade quando se transferem genes de resistência a uma determinada praga, de materiais exóticos para linhagens-elite.

Desta forma, a demora para obtenção de genótipos resistentes deve-se a diversos fatores como: a) reduzido número de pesquisadores especializados na área; b) falta de intercâmbio entre entomologistas, melhoristas, bioquímicos, botânicos e outros pesquisadores de áreas afins, dificultando a formação de equipes multidisciplinares de pesquisa; c) dificuldade para obtenção e principalmente manutenção de coleções de germoplasma; d) dificuldade para a obtenção de insetos em número adequado para a realização de experimentos; e) falta de conhecimentos sobre fitoquímica e de infra-estrutura para a obtenção dessas informações; f) descontinuidade das pesquisas (VENDRAMIM; NISHIKAWA, 2001).

Atualmente, no programa de melhoramento do arroz da Embrapa, as avaliações para resistência a pragas ocorrem pela comparação dos danos provocados nas novas linhagens do ensaio de VCU (Valor de Cultivo e Uso) com os danos causados em variedades testemunhas, em experimentos conduzidos em campo, casa-telada e laboratórios, para os principais insetos-praga do arroz: gorgulho aquático (*Oryzophagus oryzae*), percevejos-da-panícula (*Oebalus poecilus* e *O. ypsilongriseus*), cigarrinha-das-pastagens (*Deois flavopicta* e outras), percevejo-do-colmo (*Tibraca limbativentris*), broca-do-colo (*Elasmopalpus lignosellus*), broca-do-colmo (*Diatrea saccharalis*), traça-dos-cereais (*Sitotroga cerealella*) e gorgulhos (*Sitophilus zeamais* e *S. oryzae*); cupim-rizófago (*Procornitermes tiacifer*) e gorgulho-da-panícula (*Oebalus ypsilongriseus*) (MORAIS et al., 2006). As informações contribuem para melhor caracterização das novas linhagens, permitindo o estabelecimento de sistemas de produção mais eficientes para as mesmas. Um exemplo típico é das variedades BRS Primavera, Guarani e Carajás, que são menos suscetíveis ao ataque de cupim, favorecendo as medidas de controle (FERREIRA, 2001).

Engenharia genética

As fontes de resistência genética encontradas dentro do gênero *Oryza* não apresentam níveis de controle desejáveis contra uma série de insetos-praga do arroz (FERREIRA, 2006). Os inseticidas têm sido a solução empregada para o

controle das pragas, todavia, além dos altos custos, há importantes riscos para a saúde associados com o uso indiscriminado destas moléculas tóxicas. Inseticidas químicos também têm um efeito adverso sobre insetos benéficos e a persistência destes produtos químicos no ambiente é também uma questão importante. Neste contexto, a engenharia genética do arroz para resistência a insetos é uma opção importante.

Há muitos anos, plantas cultivadas vêm sendo manipuladas geneticamente pelo homem, por meio do melhoramento convencional ou clássico. Neste processo, características fenotípicas de interesse são combinadas em progênies por meio de cruzamentos controlados, com o apoio de técnicas estatísticas. Atualmente, o melhoramento de plantas pode recorrer às modernas técnicas de engenharia genética para buscar e expressar genes oriundos de fontes alternativas, e não ficar restrito àquelas do "pool" gênico da espécie em estudo (CASTRO, 2005). O uso da tecnologia do DNA recombinante (DNAr), ou engenharia genética, tem permitido ampliar as estratégias que podem ser utilizadas pelos programas de melhoramento, uma vez que genes encontrados em praticamente qualquer organismo podem ser transferidos para plantas.

A biotecnologia vegetal é uma extensão do melhoramento convencional de plantas. Ela pode ser considerada como uma nova maneira de promover, de forma mais precisa, uma atividade que o homem iniciou há, aproximadamente, dez mil anos: selecionar tipos com características superiores (BORÉM, 2001). A engenharia genética e o melhoramento convencional de plantas se complementam e, com isso, novas variedades têm sido geradas, pois a introdução de genes por métodos diretos e indiretos vem sendo realizada com sucesso.

As chamadas plantas transgênicas ou organismos geneticamente modificados são aqueles que tiveram introduzido em seu genoma um ou mais novos genes, via engenharia genética. A concepção destas plantas envolve o isolamento ou a clonagem do gene de interesse, a "engenharia" do gene em um vetor de transformação, a transformação da célula ou tecido da planta receptora e, finalmente, a seleção e a regeneração da planta e a fixação da característica desejada (LAJOLO; NUTTI, 2003).

Após uma década de uso, continua a crescer a utilização de plantas geneticamente modificadas na agricultura mundial. Segundo o ISAAA

(International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications), no ano de 2007, a área plantada com culturas transgênicas ultrapassou 114 milhões de hectares, um crescimento de doze milhões de hectares em relação a 2006. Os transgênicos estão presentes em 23 países, cobrindo os cinco continentes (JAMES, 2007).

No Brasil, o volume recorde de aprovações de organismos geneticamente modificados em 2008 coloca à disposição dos agricultores novas tecnologias que certamente irão alterar o perfil da agricultura nacional. No total, foram cinco cultivares aprovadas pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Estão em análise outras sete variedades. O próximo dessa lista provavelmente será o inédito arroz tolerante a herbicida, que passará por avaliação no início do ano de 2009.

Basicamente, a primeira geração de plantas transgênicas está relacionada à melhoria de características agrônomicas, como por exemplo, resistência a insetos e resistência a herbicidas. Para o controle de insetos-praga várias abordagens têm sido utilizadas com sucesso na obtenção de plantas resistentes (KOZIEL et al., 1993; BAJAJ; MOHANTY, 2005; WENG et al., 2006; VALDERRAMA et al., 2007; SCHWEMBER, 2008). Em geral, as estratégias estão relacionadas à expressão de genes que codificam proteínas que alteram o ciclo de vida ou que são letais para os insetos: inibidores de proteinases, inibidores de amilases, lectinas, etc. A utilização do gene *bt* (Cry) tem sido a estratégia mais amplamente usada no mercado. O gene *bt* codifica uma toxina da bactéria gram-positiva do solo, *Bacillus thuringiensis* (TABASHNIK, 2008). Muitos genes isolados desta bactéria produzem inclusões cristalinas (cristais formados pela aglomeração das proteínas *bt* no interior das células) de um potente inseticida (d-endotoxinas) chamado toxina cristal (Cry) ou toxina citolítica (Cyt) (MILHO *bt*, 2008).

Três espécies de plantas geneticamente modificadas, milho, algodão e batata, já vêm sendo comercialmente cultivadas contendo genes *bt*. No entanto, genes *bt* têm sido introduzidos e avaliados em um grande número de espécies, como soja, maçã, arroz, álamo, alfafa, cana-de-açúcar, uva e tomate. Cerca de 35% dos cultivos comerciais com plantas geneticamente modificadas nos Estados Unidos, China, África do Sul, Indonésia e Austrália contêm o *bt* (JAMES, 2007).

A busca por maior rentabilidade abre espaço para o crescimento dos transgênicos no mundo. Na União Européia, a área plantada com milho resistente

a insetos cresceu 21% neste ano e atingiu 107,7 mil hectares em sete países: Espanha (com mais de 70% dessa área), Romênia, Alemanha, República Checa, Polônia, Eslováquia e Portugal, segundo a Associação Européia das Indústrias de Biotecnologia (EuropaBio).

No Brasil, a discussão atual foca nos mecanismos de controle para a adoção da tecnologia dos transgênicos. Existem diversos grupos de pesquisa desenvolvendo plantas transgênicas direcionadas para resolver problemas da nossa agricultura. O país, há dois anos, assumiu a posição de terceiro maior produtor de transgênicos, sendo responsável por 12% da área total com transgênicos no mundo, depois dos EUA e da Argentina (JAMES, 2007). A expectativa é que, com a regulamentação e liberação de outras variedades geneticamente modificadas, haja um incremento acelerado do plantio de cultivares transgênicas.

A bactéria *Bacillus thuringiensis*

Em 1901 ocorreu um surto de mortalidade em larvas do bicho-da-seda no Japão. Pesquisadores descobriram que esta epidemia foi provocada por uma bactéria até então desconhecida. Em 1911, na Alemanha, o pesquisador Berliner conseguiu isolar e caracterizar essa bactéria, batizando-a de *Bacillus* (por sua forma cilíndrica) *thuringiensis* (em homenagem à região alemã da Turingia) (HAIN; SCHREIER, 1996). Atualmente existem várias coleções no mundo que contêm milhares de isolados de *B. thuringiensis*. As várias raças são classificadas com base em seu espectro de ação, suas toxinas e suas similaridades genéticas.

Trata-se de uma bactéria de solo, gram-positiva, aeróbica, que, sob condições ambientais adversas, pode esporular para sobreviver a estas condições. Tanto na sua fase vegetativa quanto na esporulação, estas bactérias produzem cristais de proteína e os estoca na forma de corpúsculos de paraesporos que têm efeito inseticida. Na autólise da bactéria, os esporos dormentes, resistentes ao calor, e os cristais de proteína são liberados (SILVA-FILHO; FALCO, 2001; KUMAR et al., 2008; SCHWEMBER, 2008).

Destas proteínas, as mais conhecidas são chamadas de proteínas cristal (com a denominação Cry), que são produzidas durante a fase de esporulação. Já foram identificadas diversas proteínas que atuam em diferentes ordens de insetos e até nematóides. São mais de 50 diferentes famílias descobertas e organizadas por

um código numérico, classificadas de acordo com sua especificidade em relação aos insetos. Como exemplo, pode-se citar a família Cry1, que atua sobre lepidópteros (borboletas e mariposas); a Cry3, que atua sobre coleópteros (besouros e gorgulhos); e a Cry4, que atua sobre dípteros (moscas e mosquitos), inclusive sendo utilizada no controle biológico de mosquitos vetores de doenças como a dengue (Tabela 1) (MILHO *bt*, 2008).

Tabela 1. Classificação simplificada das toxinas cristalinas de *B. thuringiensis*.

<i>Genes</i>	<i>Ordem em que a toxina produzida atua</i>	<i>Peso molecular da toxina</i>
cry1A, B, C	Lepidoptera	cerca de 130 kD
cry2A, B	Lepidoptera, Diptera	cerca de 70 kD
cry3A, B	Coleoptera	cerca de 73 kD
cry4A, B	Diptera	cerca de 130 kD
cry5C, D	Diptera	cerca de 75 kD

Fonte: adaptado de Silva-Filho; Falco (2001).

Em 1938, na França, formulações contendo colônias desta bactéria foram vendidas como inseticidas e, em 1954, seu modo de ação foi descoberto. Desde então a proteína *bt* tem sido utilizada por agricultores em todo o mundo como inseticida natural. A agricultura orgânica, em especial, tem se beneficiado do *bt*, já que é um dos poucos inseticidas permitidos para este tipo de agricultura. O inseticida pode ser aplicado através de pulverização na forma líquida ou no solo em forma de grânulos. Entretanto, a eficiência das duas formas de aplicação é limitada, devido à dificuldade de atingir os insetos-alvo, que normalmente estão na parte inferior das folhas ou já penetraram na planta (INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRICULTURAL BIOTECH APPLICATIONS, 2006).

O que torna as proteínas do *Bacillus thuringiensis* eficientes e seguras para uso é o seu modo de ação altamente específico, onde cada proteína atua de maneira singular em uma determinada ordem de insetos, ou seja, as proteínas *bt* somente apresentam atividade em organismos que possuam sítios de ligação em seu trato digestivo aos quais elas possam aderir. Tais sítios são totalmente ausentes no trato digestivo de vertebrados, não apresentando nenhum efeito em animais superiores ou humanos (KUMAR et al., 2008).

Da forma como são produzidas pelas bactérias, estas proteínas são inócuas porque a parte inseticida está fechada por duas cadeias protéicas. Para liberar o

núcleo inseticida é necessário que a proteína, em forma de cristal, seja primeiramente ingerida para depois, em ambiente alcalino, ser quebrada em pontos específicos que liberam este núcleo ativo (SILVA-FILHO; FALCO, 2001). No sistema digestivo de humanos e animais superiores o ambiente é ácido e a proteína é completamente degradada em minutos.

O mecanismo de ação tem sido estudado extensivamente em Lepidópteros, Dípteros, e Coleópteros. No pH alcalino do intestino desses insetos, os cristais de proteína presentes nas folhas das cultivares transgênicas *bt*, e ingeridos com a dieta, se dissolvem e as pró-toxinas dissolvidas são então clivadas pelas proteinases intestinais do tipo tripsina (MILNE; KAPLAN, 1993), ativando as toxinas. As toxinas ativadas ligam-se às células da superfície do intestino médio causando aumento de volume e ruptura das mesmas e, conseqüentemente, destruindo o epitélio intestinal. A destruição do epitélio médio ocorre devido à mudança do seu equilíbrio osmótico, causando a formação de perfurações nas membranas celulares pela própria toxina e a interação com as proteínas responsáveis pelo transporte de sódio e potássio presentes na membrana, impossibilitando o inseto de se alimentar e levando-o a morte em poucos dias (SILVA-FILHO; FALCO, 2001; KUMAR et al., 2008; SCHWEMBER, 2008).

Evolução na utilização do *bt*

Cientistas isolaram o gene *bt* que é responsável por codificar a proteína inseticida da bactéria *B. thuringiensis* e o incorporaram em plantas tão logo houve a possibilidade de transformar plantas geneticamente (1983-1985). O primeiro resultado com sucesso ocorreu em 1987, quando foram produzidas plantas transgênicas de fumo resistentes ao ataque de pragas (BARTON et al., 1987; FISCHHOFF et al., 1987; VAECK et al., 1987). No ano de 1993, Fujimoto et al. (1993) desenvolveram a primeira planta de arroz *bt*. Estas iniciativas solucionaram os problemas tradicionais dos produtos *bt*. A transferência e expressão de genes da toxina Cry em plantas converte inseticidas não sistêmicos em sistêmicos, possibilitando o controle até dos insetos que se alimentam dentro da planta, como a broca-do-colmo, ou de suas raízes, como os gorgulhos aquáticos. As empresas Cyba-Geigy e Mycogen obtiveram autorização para plantio comercial de milho transgênico resistente a insetos, em 1994. Em 1996, a Delta and Pineland e a Monsanto obtiveram liberação para a primeira comercialização de algodão transgênico *bt* nos EUA.

Agricultores têm utilizado significativamente variedades transgênicas resistentes a insetos obtidas através da tecnologia *bt* (JAMES, 2007). As vantagens desta tecnologia a tornaram um sucesso em culturas como o algodão, o milho e a batata. Com isto, as plantas passaram a contar com um sistema de proteção contra insetos-praga eficiente e seguro durante todo o seu ciclo de vida.

Resistência a insetos através de genes *bt*

Neste item serão apresentados exemplos do emprego da tecnologia *bt* em três importantes culturas, o algodão, o milho e o arroz. O algodão e o milho já são cultivados comercialmente de maneira significativa em todos os continentes do planeta. Já o arroz *bt*, cultivado ilegalmente na China (JIA, 2008), deve ter sua liberação comercial decretada no ano de 2009 naquele país, com perspectivas de liberação próxima na Índia, Japão e outros países.

Algodão *bt*

Variedades de algodão transgênico resistente a insetos já foram liberadas para comercialização na África do Sul, Argentina, Austrália, Brasil, China, Colômbia, Índia, Indonésia, México e Estados Unidos, e estão sendo testadas para liberação comercial em outros países. Estima-se que 43% de todo o algodão cultivado no mundo seja oriundo de cultivares transgênicas resistentes a insetos-praga (JAMES, 2007).

Os insetos-praga constituem um dos principais problemas agrônômicos desta cultura, causando grandes prejuízos econômicos anualmente. É estimado que a produção de algodão consuma cerca de 25% dos defensivos agrícolas utilizados em todo o mundo, dentre os quais se incluem alguns dos mais tóxicos existentes (PAIVA, 2007). A redução acumulada no uso de defensivos agrícolas para a década de 1996 a 2005, resultante do cultivo das lavouras transgênicas, foi estimada em 224.300 toneladas de ingrediente ativo. Nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil são efetuadas, em média, 18 aplicações de pesticidas químicos durante o ciclo da cultura. Na região Centro-Oeste, onde as lavouras são mais recentes, estão previstas onze aplicações só para controlar uma das pragas principais, o bicudo do algodoeiro.

A Índia é o país que tem a maior área plantada com algodão do mundo, em média 9,0 milhões de hectares por ano, com milhões de pequenos produtores com área inferior a 5,0 ha. A produtividade é baixa, média de 286 kg/ha de fibra

devido a uma série de fatores, com destaque para a forte presença de insetos-pragas, em especial a lagarta-das-maçãs, *Helicoverpa armigera*. Os agricultores indianos vêm adotando o algodão *bt* rapidamente desde sua liberação comercial, em 2002. Em 2007, pelo terceiro ano consecutivo, foi registrado, no país, o maior aumento proporcional em área cultivada com algodão transgênico. Neste ano, foram cultivados 6,2 milhões de hectares com o algodão *bt*, ou seja, 66% da área total. Estima-se que o rendimento nas lavouras tenha aumentado em 50%, devido ao uso de variedades transgênicas, com redução significativa na utilização de inseticidas. Os resultados conseguidos indicam um aumento de renda médio de US\$ 250 por hectare (JAMES, 2007; PAIVA, 2007). A Índia, que tinha um dos menores níveis de produtividade no mundo, quase dobrou sua produção e passou de importadora para exportadora de algodão.

A China, maior produtor e consumidor mundial de algodão, introduziu o algodão *bt* em 1996. A produção total gira em torno de 7,7 milhões de toneladas em uma área aproximada de 6,0 milhões de hectares (AGRIANUAL, 2009). Em 2007, o algodão *bt* foi cultivado por 7,1 milhões de pequenos produtores, com área média menor que 0,5 ha. Estes produtores foram responsáveis por 3,8 milhões de hectares, o que equivale a 69% de todo o algodão cultivado na China. Produtividades elevadas, superiores a 1.000 kg de fibra/ha, são comuns entre os produtores chineses de algodão *bt*. Esta média está entre as cinco maiores do planeta, entretanto, é a única envolvendo pequenos produtores. A adoção em larga escala do algodão geneticamente modificado na China reduziu o uso de pesticidas e causou uma diminuição substancial no índice de envenenamento de agricultores por defensivos agrícolas. Neste país, a utilização da tecnologia *bt* no algodão tem aumentado o rendimento em 9,6%, reduzido o uso de pesticidas em 60%, com implicações positivas para a saúde do agricultor e meio-ambiente, e gera um aumento de renda de US\$ 220 por hectare (JAMES, 2007). Na China, Austrália e Estados Unidos foi documentado um efeito positivo no número e diversidade de insetos nos campos de variedades transgênicas *bt*, quando comparado com campos cultivados com cultivares convencionais, com uso de inseticidas (FERRY et al., 2006; ROMEIS et al., 2006; TORRES; RUBERSON, 2008; TABASHNIK et al., 2008).

O Brasil é o quinto maior produtor de algodão do mundo e teve a primeira variedade transgênica liberada para cultivo comercial em 2005. No ano de 2008, o País plantou em torno de 1,1 milhões de hectares de algodão, sendo 500 mil hectares com o algodão *bt*, ou seja, aproximadamente 46% da área total (PAIVA, 2007; AGRIANUAL, 2009). As pesquisas desenvolvidas e observações de

campo mostram que esta tecnologia apresenta eficiente controle das principais lagartas pragas do algodoeiro: *Pectinophora gossypiella*, *Alabama argillacea* e *Heliothis virescens*. O número de aplicações de inseticidas durante o ciclo da cultura foi significativamente reduzido, bem como todas as despesas relacionadas à operação de máquinas e equipamentos necessários à sua aplicação (PAIVA, 2007). A produtividade brasileira é de 1.443 mil kg por hectare (AGRIANUAL, 2009). A Abrapa (Associação Brasileira de Produtores de Algodão) explica que a aplicação desse tipo de tecnologia resulta num impacto ambiental 15% menor e numa redução de quase 230 milhões de kg de agrotóxicos lançados na lavoura (ROCHA, 2008).

O desempenho do algodão *bt* no Brasil, em duas safras, gera a expectativa de forte incremento da área plantada com variedades transgênicas de algodão. Produtores que adotaram a variedade do algodão transgênico foram capazes de alcançar um controle efetivo de insetos-pragas, com números reduzidos de aplicações de inseticida. O algodão transgênico também proporcionou aos agricultores flexibilidade e simplicidade na execução dos tratamentos químicos. Esta vantagem, de facilitar e diminuir a necessidade de pulverizações constantes durante o ciclo da cultura, é considerada pelos agricultores como um fator importante e positivo na rápida adoção desta tecnologia.

Milho *bt*

O milho é a segunda cultura transgênica mais cultivada no mundo com 35,2 milhões de hectares distribuídos em 16 diferentes países. Perde em área plantada apenas para a soja tolerante a herbicida, que é cultivada em uma área de 58,6 milhões de hectares (JAMES, 2007). Os países em que o milho transgênico é plantado são Estados Unidos, Argentina, Canadá, Honduras, Colômbia, Uruguai, África do Sul, Filipinas, Portugal, Espanha, França, Alemanha, República Checa, Eslováquia, Romênia e Polônia. Os oito últimos pertencem a União Européia, que permite o plantio e a importação de vários tipos de milho transgênico.

O Brasil entrou neste grupo de países em 2007, com a aprovação, pela CTNBio, de três tipos de milho transgênicos: milho LibertyLink® tolerante ao herbicida glufosinato de amônio e as variedades de milho MON810 e *bt*11 resistentes a insetos. Estes processos levaram cerca de oito anos para serem aprovados no Brasil, estando disponíveis há mais de dez anos nos Estados Unidos e Argentina (MILHO *bt*, 2008).

As variedades de milho MON810 e *bt11* possuem o gene *bt* em sua constituição, o que confere proteção contra insetos-praga da ordem Lepidóptera, como a broca-do-colmo (*Diatraea saccharalis*), a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e a lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea*), sem afetar as espécies não-alvo, especialmente os inimigos naturais. Estes insetos-praga podem causar severos danos à cultura do milho, prejudicando significativamente a produtividade das plantas. A broca-do-colmo pode causar um dano de 8%, já a lagarta-do-cartucho é responsável por um dano potencial de 40% e a lagarta-da-espiga pode causar um dano de 21%. O controle destes insetos é fundamental para a obtenção de boas produtividades com a cultura do milho. Assim, o cultivo do milho transgênico com o gene *bt* representa uma estratégia eficiente e ecologicamente compatível com o manejo integrado de pragas.

Existem, no mercado internacional, três linhas de milho *bt* para o controle de lagartas de lepidópteros: YieldGard® CB (também conhecido como MaizGard®) da Monsanto; Agrisure® CB da Syngenta; e Herculex® I desenvolvido pela Dow AgroSciences em conjunto com a Pioneer. Os dois primeiros contêm a proteína Cry1Ab e, o último, a proteína Cry1F (MILHO *bt*, 2008) e todos têm como alvo as lagartas de lepidópteros.

Em 2007, os EUA mantiveram a liderança quanto ao plantio de lavouras geneticamente modificadas, com 57,7 milhões de hectares (50% da área global com lavouras transgênicas) motivados por um mercado crescente de etanol com uma área plantada com milho geneticamente modificado, aumentando em uma taxa significativa de 40% (JAMES, 2007). A área total com milho *bt* foi de aproximadamente 17 milhões de hectares, ou seja, 50% da área total de milho (AGRIANUAL, 2009). O incremento de produtividade devido a esta tecnologia é estimado em 7% naquele país (JAMES, 2006, 2007).

Um estudo econômico realizado na Argentina, onde a taxa de utilização de milho *bt* é próxima a 70%, indicou que os produtores daquele país já ganharam, em dez anos de sua adoção (o milho *bt* foi liberado para plantio comercial neste país em 1998), mais de 200 milhões de dólares decorrentes da adoção desta tecnologia. A utilização das variedades resistentes a insetos-praga trouxe um aumento médio de produtividade de 9% (JAMES, 2007). Estudos realizados pela UNICAMP e pela ABRASEM projetam ganhos anuais desta mesma ordem, se o Brasil adotar a tecnologia em 50% da sua área atual de milho.

<i>País</i>	<i>Liberação comercial</i>	<i>Aumento de produtividade (%)</i>	<i>% da área com Milho bt</i>
EUA	1996	7	50
Canadá	1996	7	66
Argentina	1998	9	70
Espanha	1998	6	11
África do Sul	2000	11	25

De uma maneira geral, são atribuídas às variedades híbridas transgênicas de milho *bt* as seguintes vantagens: necessitam de menor quantidade de inseticidas e representam uma estratégia eficiente e ecologicamente compatível com o manejo integrado de pragas; ajudam a preservar a população de insetos benéficos na lavoura, pois são seletivas para os insetos mastigadores: broca-do-colmo, lagarta-do-cartucho, lagarta-da-espiga; menor risco de intoxicação de funcionários com produtos químicos; oferecem menor risco de contaminação do lençol freático e dos rios; requerem menor consumo de água; menor utilização de máquinas, com isso menor utilização de mão-de-obra e menor consumo de combustível e emissão de CO₂ na atmosfera durante as práticas agrícolas; redução do número de embalagens vazias e produtos químicos para descarte; diminuição do transporte e armazenamento de inseticidas na propriedade; e por fim, maior produtividade e maior rentabilidade. Em 2006, no mundo, a diminuição equivaleu à remoção de 14,8 bilhões de kg de dióxido de carbono da atmosfera, ou aproximadamente 6,6 milhões de carros por um ano. Essa tecnologia, no período de 1996 a 2006, ocasionou redução na aplicação de inseticidas em 286 milhões de kg, ou 7,8% a menos, que equivalem a cerca de 40% do volume anual de pesticidas aplicados nas terras aráveis da União Européia. Nos Estados Unidos, o milho resistente à lagarta-do-cartucho acarretou, na safra 2005, uma redução de 27% no uso de inseticidas, no comparativo com 2004 (FERRY et al., 2006; ROMEIS et al., 2006; JAMES, 2007; MILHO *bt*, 2008; TABASHNIK et al., 2008; TORRES; RUBERSON, 2008).

Outro fato importante da tecnologia *bt* é a ação contínua da proteína inseticida desde a emergência da lavoura até a colheita e, a promoção em diferentes níveis de supressão, do ataque da lagarta-do-cartucho, da lagarta-da-espiga e o controle da broca-do-colmo. Entretanto, a utilização destas variedades *bt* não exige o agricultor de aplicar algum inseticida complementar em sua lavoura. Em regiões com alta infestação de lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda*), é possível que haja necessidade de uso de inseticidas como medida adicional de controle dessa praga. Assim, recomenda-se o uso de inseticidas (produtos registrados para a cultura do milho),

quando o monitoramento da lavoura indicar 20% de plantas com "cartucho" apresentando injúrias da lagarta-do-cartucho. Neste momento, caso não se adote o controle com inseticidas, poderá ocorrer injúrias severas nas plantas e, conseqüentemente, dano econômico na lavoura. Assim, a adoção de programas de manejo integrado de pragas para o manejo da *S. frugiperda*, mesmo no milho *bt*, é de fundamental importância para o controle eficiente dessa praga na cultura.

Arroz *bt*

As primeiras plantas transgênicas de arroz com o gene *bt* foram obtidas há mais de 15 anos (FUJIMOTO et al., 1993). Hoje são encontrados na literatura diversos relatos de arroz *bt* em ensaios de campo em diferentes países com resultados importantes no controle de insetos-praga.

Shu et al. (2000) relataram amplo espectro de resistência de uma cultivar chinesa (KDM1) da subespécie *japonica* transformada com o gene *cry1Ab*. As plantas obtidas foram testadas em ensaios de laboratório e de campo sob condições de infestação natural e apresentaram resistência a oito espécies de lepidópteros, algumas de grande importância econômica para a cultura do arroz como *Chilo suppressalis* e *Scirpophaga incertulas*. Ensaios de campo adicionais, com outros dois eventos obtidos com o mesmo gene, mostraram alta resistência contra estas pragas (YE et al., 2001). Kim et al. (2008) transformaram três variedades de arroz coreanas com o gene *cry1Ab*. Foram realizados ensaios de inoculação no laboratório e no campo com o inseto praga *S. incertulas*, uma broca do colmo de difícil controle responsável por grandes perdas nas lavouras (Fig. 1). Em condições *in vitro*, 100% das larvas morreram, enquanto que no campo houve completa proteção das plantas. Estes eventos podem ser utilizados como fonte de resistência em cruzamentos com variedades modernas, bem como na produção de arroz híbrido (WANG et al., 2002).



Fig. 1. Broca do colmo atacando plantas de arroz.

Variedades híbridas de arroz transgênicas com o gene *bt* têm sido produzidas e testadas frequentemente em ensaios de campo. Na China, híbridos foram testados contra os insetos-praga *Cnaphalocrocis medinalis* e *S. incertulas*, com ótimos resultados (TU et al., 2000). Híbridos de arroz *bt* também foram desenvolvidos no Paquistão (HUSNAIN et al., 2002; BASHIR et al., 2004) e no Mediterrâneo (BREITLER et al., 2000, 2004; MARFA et al., 2002). Ensaios de campo nestes dois locais revelaram elevada tolerância do arroz transgênico contra *S. incertulas* e *C. medinalis* (BASHIR et al., 2004; BREITLER et al., 2004). Variedades transgênicas de arroz resistentes a *S. incertulas* também foram obtidas na Índia (NAYAK et al., 1997; KHANNA; RAINA, 2002; RAMESH et al., 2004a, 2004b).

A concepção de plantas transgênicas de arroz com múltiplos genes, com diferentes modos de ação contra a mesma praga ou uma gama de pragas é a estratégia mais moderna no controle de insetos-praga na agricultura. Esta estratégia, de piramidização de genes, objetiva a concepção de plantas com resistência em longo prazo. Os genes *cry1Ab* ou *cry1Ac*, por exemplo, podem ser combinados com *cry1Ac*, *cry2A* ou *cry9C*, visando um maior tempo de manutenção da resistência a insetos em arroz transgênico, uma vez que as proteínas *Cry1Ab* e *Cry1Ac* competem pelo mesmo sítio de ligação em insetos como o *C. suppressalis* e *S. incertulas* (ALCANTARA et al., 2004). Chen et al. (2005) transformaram uma linhagem elite restauradora de fertilidade, da subespécie *indica*, com o gene *cry2A*. As plantas transgênicas foram significativamente mais resistentes a *S. incertulas* do que o controle. O emprego de genes *bt* piramidizados com outros genes como o que codifica a lectina de *Galanthus nivalis* e o *gna*, proporcionou ampla gama de resistência contra diversas pragas, incluindo insetos sugadores (MAQBOOL et al., 2001; RAMESH et al., 2004a), nos quais os genes *bt* sozinhos não têm efeito significativo (BERNAL et al., 2002; DATTA et al., 2002). Em outro trabalho, Han et al. (2008) inseriram os genes *cry1Ac* e *cpT1* (inibidor de tripsina, isolado de feijão caupi) em duas variedades de arroz da subespécie *japonica*, Minghui 86 e Il You Minghui 86. As variedades *bt* obtidas e os híbridos formados a partir das mesmas, após ensaios *in vitro* e no campo, se mostraram altamente resistentes aos insetos-praga *C. suppressalis*, *C. medinalis* e *S. incertulas*, nas principais áreas de cultivo de arroz da China. Estes resultados são confirmados pelos trabalhos de Han et al. (2006, 2007) que testou estas variedades *bt* isoladamente contra *C. suppressalis* e *C. medinalis*.

Tabela 2. Exemplos de plantas transgênicas de arroz com resistência a insetos, obtidas a partir do ano 2000.

<i>Gene</i>	<i>Ordem</i>	<i>Principais resultados</i>	<i>Referência bibliográfica</i>
<i>cry1Ab</i>	Lepidópteros	Alta proteção das plantas em ensaios de campo contra estes insetos	Shu et al. (2000) Ye et al. (2001)
<i>cry1Ab, cry1Ac</i>	Lepidópteros	Ensaio de campo de híbridos <i>bt</i> (índica) com alta proteção contra insetos e alta produtividade	Tu et al. (2000)
<i>cry1Ab</i> or <i>cry1Ac</i>	Lepidópteros	Arroz <i>bt</i> com alta proteção contra insetos em ensaios de campo ao longo de várias gerações	Shu et al. (2002); Wang et al. (2002); Wu et al. (2002)
<i>cry1Aa</i> ou <i>cry1Ab</i>	Lepidópteros	Ensaio de campo com arroz <i>bt</i> no Mediterrâneo	Breitler et al. (2000, 2004); Marfa et al. (2002)
<i>cry1Ab</i> e/ou <i>cry1Ac</i>	Lepidópteros	Diversas variedades obtidas com resistência a insetos	Khama e Raina (2002); Ramesh et al. (2004a; 2004b)
<i>cry1Ab</i>	Lepidópteros	Arroz <i>bt</i> obtido sem genes seletivos	Cotsaftis et al. (2002)
<i>cry1Ab</i>	Lepidópteros	Expressão controlada por promotor induzido por injúrias	Breitler et al. (2001)
<i>cry1Ab</i>	Lepidópteros	Expressão controlada por promotores tecido-específicos	Husnain et al. (2002)
<i>cry1Ab, cry1Ac</i> e/ou <i>gna</i>	Lepidópteros, insetos sugadores	Piramidamento de genes visando proteção contra amplo espectro de insetos	Maqbool et al. (2001); Ramesh et al. (2004a)
<i>cry, xa21</i> e <i>RC7</i>	Lepidópteros e doenças	Piramidamento de genes visando resistência a pragas e doenças	Datta et al. (2002)
<i>cry1Ac</i> e <i>gna</i>	Hemípteros e Lepidópteros	Inserção de plasmídeos linearizados com apenas a sequência de interesse	Loc et al. (2002)
<i>cry1Ac; cry2A</i>	Lepidópteros	Ensaio de campo com arroz <i>bt</i> no Paquistão	Bashir et al. (2004)
<i>cry2A</i>	Lepidópteros	Piramidamento de genes visando proteção contra amplo espectro de insetos	Chen et al. (2005)
<i>cry1Ab</i>	Lepidópteros	Completa proteção das plantas em ensaios de campo contra insetos	Kim et al. (2008)
<i>cry1Ac</i> e <i>cpT1</i>	Lepidópteros	Completa proteção das plantas em ensaios de campo contra vários insetos-praga	Han et al. (2006, 2007, 2008)

O arroz é o cereal de maior importância para a população chinesa. Assim, tem por parte dos cientistas e autoridades grande atenção, tanto que a China tem o maior programa de arroz geneticamente modificado no mundo. Algumas variedades obtidas são resistentes a diversos insetos-praga, principalmente os da ordem dos lepidópteros e estão aguardando liberação para plantio após extensivos testes de campo. Uma série de variedades transgênicas restauradoras e combinações híbridas com alta produtividade foram aprovadas para ensaios de grande escala e ensaios de biossegurança, que é a última etapa antes da liberação para plantio e comercialização (Fig. 2) (HUANG et al., 2007).

O Dr. Jikun Huang et al. (2007) calcula que, em média, o arroz transgênico proporcionou um aumento de rendimento de 2 a 6% e reduziu as aplicações de pesticidas em quase 80% ou 17 kg por hectare. Em nível nacional, prevê-se que o arroz *bt* poderá oferecer benefícios de US\$ 40 bilhões até o ano de 2010 para a China, além de benefícios ambientais que irão contribuir para uma agricultura mais sustentável e o alívio da pobreza para os pequenos agricultores com recursos escassos (HUANG et al., 2005, 2007; CYRANOSKI, 2005).

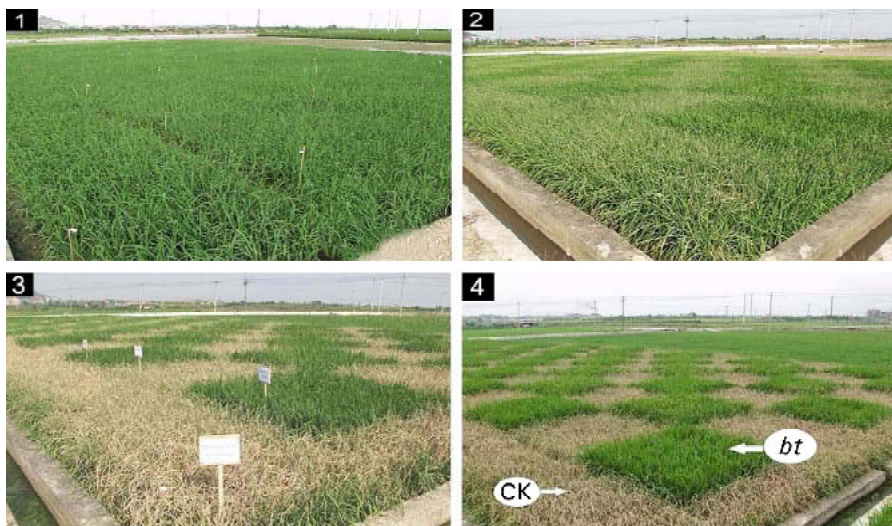


Fig. 2. Eficiência do arroz *bt* contra *C. suppressalis*. As fotos mostram a evolução de um campo de arroz em quatro datas distintas: (1) 24 de junho, (2) 15 de julho, (3) 26 de julho, (4) 31 de julho de 2004. O desenho do campo seguiu o modelo de um tabuleiro de xadrez, onde parcelas retangulares com o arroz *bt* foram intercaladas com parcelas de arroz convencional. Com o avançar do ciclo da cultura, o arroz convencional (CK) desenvolveu sintomas cada vez mais agudos do ataque do inseto *C. suppressalis*, enquanto que o arroz *bt* não foi afetado pelo ataque do inseto, demonstrando a eficiência do gene *bt* na prevenção de danos nas plantas.
Fonte: Huang et al. (2007).

Biossegurança das variedades *bt*

A história mostra que mudanças ou alterações nos padrões alimentícios, ou diretamente nos alimentos, causaram preocupação pública. Foi o caso do enlatamento, da pasteurização, da comercialização da margarina, do milho híbrido, do uso da irradiação e das microondas e parece também ser o caso dos alimentos geneticamente modificados (IFT, 2000).

A biossegurança é uma área da ciência surgida no século passado voltada para o controle e a minimização de riscos advindos da prática de diferentes tecnologias biológicas, seja em laboratório, ou quando aplicadas ao ambiente (BORÉM, 2001). No Brasil, foram estabelecidas normas de biossegurança para regular o uso da engenharia genética e a liberação no ambiente de organismos geneticamente modificados (OGM). Essas normas estão reguladas pela Lei no. 8974, sancionada em 5 de janeiro de 1995. Pela medida provisória número 1015, de 29 de maio de 1995, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio foi implementada. Cabe à CTNBio a elaboração de normas de biossegurança relacionadas com organismos transgênicos. Dentre outras atribuições da CTNBio estão a autorização e fiscalização de laboratórios e experimentos de campo com OGM e a solicitação de estudos relacionados à segurança ambiental e alimentar de todo e qualquer produto transgênico. Vale ressaltar que os procedimentos e mecanismos adotados pela CTNBio são rígidos e competentes, inclusive servindo de modelo para outros países (VALOIS et al., 1999).

A concepção dos OGM está fundamentada na tecnologia do DNA recombinante que permite a transferência de novos genes, alterando, portanto, a sua composição. Essa alteração envolve efeitos intencionais, relacionados à característica do gene introduzido, e efeitos não-intencionais (previsíveis ou não), decorrentes dessa inserção ou da manipulação conduzida (por exemplo, alteração de uma via metabólica ou de um composto químico). Os riscos potenciais estão associados ao novo DNA introduzido e ao seu produto ou a efeitos não-intencionais, decorrentes da introdução e expressão no genoma deste novo gene (efeito pleiotrópico ou de epistasia) e eventuais mutações (LAJOLO; NUTTI, 2003).

A simples ingestão de DNA adicional não é considerada perigosa, já que DNA/RNA são ingeridos normalmente na dieta. Os produtos da expressão dos genes, por outro lado, podem ser tóxicos, ter ação antinutricional ou causar algumas mudanças no valor nutricional do alimento. Podem ocorrer também efeitos não-intencionais. Uma alteração no genoma não é perceptível com facilidade e pode levar a mudança na expressão enzimática, logo, nos fluxos de diversas vias metabólicas ainda não conhecidas. Além disso, a inserção do transgene nos cromossomos pode alterar a expressão de outros genes; por exemplo, reativação de genes silenciados por processos evolutivos, os quais quando ativados passariam a produzir substâncias indesejáveis (LAJOLO; NUTTI, 2003).

Desta forma, para que um novo OGM possa ser liberado para plantio comercial, o mesmo deve ser analisado e aprovado quanto à sua segurança alimentar (incluindo testes de toxicidade e alergenicidade) e ambiental. Assim, devido à alta especificidade da toxina Cry, as variedades *bt* têm se mostrado seguras para humanos e o meio ambiente, principalmente quando comparadas ao uso de pesticidas químicos no controle de insetos-praga (MENDELSON et al., 2003). Esta especificidade do *bt* é uma das características que o torna um método biológico muito eficiente para o controle de insetos-pragas.

Um trabalho realizado por Marvier et al. (2007) aponta que o uso de variedades transgênicas *bt* tem efeito melhor frente ao meio ambiente do que os campos cultivados com o auxílio de defensivos agrícolas. Para se chegar a esta conclusão, foram analisados 42 relatórios de pesquisa a respeito do algodão e milho geneticamente modificados que carregavam consigo o gene inseticida *bt*. Os pesquisadores descobriram que campos com a presença do gene *bt* possuem mais insetos do que as plantações com pesticidas. Ao invés de matar a maioria dos artrópodes presentes na lavoura, como acontece no uso de inseticidas, as variedades *bt* controlam apenas espécies específicas nocivas à lavoura. Variedades *bt* têm contribuído para reduções significativas na utilização de inseticidas químicos na agricultura, tornando-se um componente de grande importância para sistemas de manejo integrado de insetos-praga (ROMEIS et al., 2006).

Áreas de refúgio

Uma das maiores preocupações no uso da tecnologia *bt* é a seleção de insetos resistentes que possam reduzir a vida útil da tecnologia. Isto ocorre devido a possíveis alterações genéticas (mutação) nos insetos e seleção destes indivíduos que, com a eliminação dos outros indivíduos da população, têm maiores chances de se reproduzir e passar esta característica a seus descendentes (TABASHNIK, 2008).

A estratégia mais utilizada para o manejo ou atraso no aparecimento desta resistência é a adoção de áreas de refúgio plantadas com cultivares convencionais. Toda área cultivada com variedade *bt* deve ter, obrigatoriamente, uma área anexa com uma variedade convencional, para permitir que indivíduos suscetíveis se reproduzam, reduzindo assim a seleção

de formas resistentes do inseto-praga. Existem vários modelos que estão sendo aplicados nos países onde já se utiliza esta tecnologia. Normalmente são distribuídas faixas de milho convencional intercaladas ou, lateralmente, às áreas de variedades *bt* (MILHO *bt*, 2008).

A intenção das áreas de refúgio é permitir que nas redondezas do campo, onde esteja plantado a variedade *bt*, ocorra uma população de insetos suscetíveis e estes se cruzem com os prováveis insetos resistentes (escapes) da área com o gene *bt*. Como a herança deste tipo de resistência adquirida (mutação) é normalmente recessiva, os descendentes do cruzamento entre insetos resistentes e suscetíveis geram uma progênie completamente suscetível que será eliminada ao se alimentar das variedades *bt* (MILHO *bt*, 2008).

A prevenção para o aparecimento de populações resistentes requer as seguintes condições: que tenha uma quantidade suficiente de insetos suscetíveis próximos às lavouras com variedades *bt* e que os insetos sobreviventes resistentes oriundos da área com variedades *bt* sejam raros. Estas duas condições são importantes para que o plano de manejo de resistência tenha êxito.

No Brasil, é recomendada a adoção da área de refúgio de, no mínimo 10% da área plantada. As áreas de refúgio devem estar plantadas de modo que não haja áreas com a variedade *bt*, em plantio contínuo e em qualquer direção, acima de 1.500 metros de extensão. Assim, a área de refúgio deverá ser distribuída em uma ou mais áreas dentro de cada propriedade, de forma a atender a estas regras. É permitido o tratamento destas áreas com inseticidas que não sejam formulados a base de *bt*, aplicados via foliar, desde que a pressão das pragas atinja o nível de controle. Estas práticas fazem parte do Programa de Manejo de Resistência de Insetos (MRI) (MILHO *bt*, 2008).

Para aumentar a probabilidade de sucesso do manejo da resistência, é recomendado que a variedade plantada na área de refúgio seja de mesmo ciclo que a variedade *bt* e plantada na mesma época. O produtor deverá se responsabilizar pela adoção do refúgio e disto dependerá a duração e a eficiência da tecnologia. Empresas e agricultores devem trabalhar unidos em defesa da tecnologia e da sua sustentabilidade.

Segurança Alimentar

Análises realizadas nos Estados Unidos e na União Européia sobre a composição dos grãos e da forragem (proteínas, gorduras, cinza, fibras cruas, fibras em detergentes neutros, fibras em detergentes ácidos e umidade, aminoácidos, ácidos graxos, cálcio, fósforo, vitamina E e carboidratos), confirmaram que as variedades *bt* liberadas para plantio comercial apresentam equivalência substancial com sua contra-parte convencional (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001).

No caso do milho *bt*, os resultados das análises dos grãos demonstraram que o processamento dos grãos e forragem não altera a composição do milho *bt* e, portanto, os produtos derivados desse milho são tão seguros e nutritivos quanto os produtos processados de milho convencional (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001).

Fluxo Gênico

O escape dos transgenes via pólen é um risco nas culturas em que a taxa de fluxo gênico é alta dentro da espécie cultivada e/ou entre esta e as formas silvestres do gênero. Apesar da taxa de cruzamento entre plantas de arroz ser considerada baixa, o mesmo se cruza com outras variedades de arroz e espécies selvagens existentes no país. A taxa de cruzamento estimada para o arroz se situa entre 0,01 e 0,8% (MESSEGUER et al., 2001, 2004; SONG et al., 2003; CHEN et al., 2004; BRUNES et al., 2007; RONG et al., 2007).

Diante disto, é necessário que o fluxo de pólen no arroz seja evitado em lavouras de arroz transgênico. Estudos com algodão permitiram determinar o número de linhas bordadura necessárias para a contenção do fluxo de pólen de plantas transgênicas para plantas silvestres no Brasil (FREIRE, 2002). Medidas de prevenção, como a adoção de áreas de exclusão baseadas na proposta de zoneamento podem também ser efetivas no controle do fluxo (FREIRE et al., 2002).

No caso do milho, a CTNBio determinou através da sua Resolução Normativa nº 4, de 16 de agosto de 2007, que as distâncias mínimas entre cultivos comerciais de milho geneticamente modificado e não geneticamente modificado em áreas vizinhas, deverão ter uma distância de isolamento de 100 metros das

lavouras de milho convencional de vizinhos ou dez fileiras de milho convencional (sem o gene *bt*) de mesma estatura ao seu redor, acrescidas de outros 20 metros de isolamento.

Estudos considerando o fluxo gênico em arroz transgênico permitiram a determinação da distância mínima de segurança para a contenção de qualquer cruzamento indesejável. A distância de isolamento de 50 metros é indicada como suficiente e segura para lavouras de arroz transgênico (MESSEGUER et al., 2004; RONG et al., 2007). A utilização de quebra ventos também é indicada como uma medida preventiva adicional. Estas medidas preventivas são consideradas eficientes para a minimização da ocorrência do fluxo gênico em arroz.

Considerações finais

Estimativas prevêem que a quantidade de alimentos deve ser triplicada para atender à demanda projetada de aproximadamente 12 bilhões de habitantes vivendo no planeta em 2050 (VASIL, 2003). Além disso, mudanças climáticas imprevisíveis têm preocupado a comunidade científica. A transgenia, aliada com outras técnicas convencionais de melhoramento e manejo, tem enorme potencial para aumentar a produtividade agrícola, beneficiar o meio ambiente e melhorar a qualidade dos alimentos. A discussão não está mais no patamar de se adotar ou não esta tecnologia, e sim, em como adotá-la.

O fato do arroz ser uma planta modelo em estudos genéticos e ter seu genoma completamente sequenciado proporciona grande volume de informações sobre o controle genético e expressão gênica de características de interesse para o melhoramento. A metodologia para obtenção de transgênicos está otimizada, promotores tecido-específicos ou induzidos estão disponíveis e a piramidização de genes já foi reportada na literatura (BAJAJ; MOHANTY, 2005). Esses fatores contribuem para que um grande número de eventos transgênicos em arroz esteja atualmente em fase final de avaliação de campo e de estudos de biossegurança.

A utilização do gene *bt* para o controle de insetos-praga está sendo demonstrada com sucesso em todos os continentes do planeta. Aproximadamente 40 milhões de hectares foram cultivados somente no ano de 2007, com perspectivas de contínuo incremento de área nos próximos anos. As vantagens desta tecnologia são significativas para agricultores, consumidores e o meio ambiente de uma maneira geral. Espera-se que no ano de 2009, o arroz *bt* seja liberado para

plântio comercial na China, com forte redução na utilização de pesticidas e aumento da produtividade das lavouras, trazendo benefícios aos rizicultores chineses.

Em 24 anos de agricultura transgênica (1994 a 2008), em milhões de hectares, sob as mais diversas condições ambientais em vários países em todo o planeta, nenhuma limitação à saúde humana ou ao ambiente foi identificada. Tudo indica que o processo seletivo colocado em prática tem sido seguro, eficiente e eficaz. Acredita-se que os eventuais riscos sejam controláveis, e os benefícios sejam maiores do que eventuais riscos. Aliás, os benefícios para a sociedade advindos da redução do uso de defensivos químicos que contaminam o homem, o ambiente e deixam resíduos nos alimentos, o aumento da produtividade e a produção de alimentos mais saudáveis são apenas algumas oportunidades criadas pelas variedades geneticamente modificadas. Passada a resistência inicial, os transgênicos tornar-se-ão parte integrante e natural da mesa, do vestuário e dos fármacos do homem.

Assim, a Embrapa se prepara para uma nova era no melhoramento genético do arroz no Brasil, através de cultivares que ofereçam maior segurança de produção a agricultores e a obtenção de um produto mais limpo e saudável para consumidores.

Referências

AGRIANUAL: ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA. São Paulo: FNP, 2009. 1 v.

ALCANTARA, E. P.; AGUDA, R. M.; CURTISS, A.; DEAN, D. H.; COHEN, M. B. *Bacillus thuringiensis* d-endotoxin binding to brush border membrane vesicles of rice stem borers. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 55, n. 4, p. 169–177, Apr. 2004.

BAJAJ, S.; MOHANTY, A. Recent advances in rice biotechnology - towards genetically superior transgenic rice. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 3, n. 3, p. 275–307, May 2005.

BARTON, K.; WHITELEY, H.; YANG, N. S. *Bacillus thuringiensis* d-endotoxin in transgenic *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 85, n. 4, p. 1103-1109, Dec. 1987.

BASHIR, K.; HUSNAIN, T.; FATIMA, T.; LATIF, Z.; MEHDI, S. A.; RIAZUDDIN, S. Field evaluation and risk assessment of transgenic indica basmati rice.

Molecular Breeding, Dordrecht, v. 13, n. 4, p. 301–312, May 2004.

BERNAL, C. C.; AGUDA, R. M.; COHEN, M. B. Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 102, n. 1, p. 21–28, Jan. 2002.

BORÉM, A. **Escape gênico e transgênicos**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 206 p.

BREITLER, J. C.; MARFA, V.; ROYER, M.; MEYNARD, D.; VASSAL, J. M.; VERCAMBE, B.; FRUTOS, R.; MESSEGUER, J.; GABARRA, R.; GUIDERDONI, E. Expression of a *Bacillus thuringiensis cry1B* synthetic gene protects Mediterranean rice against the striped stem borer. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 19, n. 12, p. 1195–1202, Dec. 2000.

BREITLER, J. C.; CORDERO, M. J.; ROYER, M.; MEYNARD, D.; SAN SEGUNDO, B.; GUIDERDONI, E. The -689/+ 197 region of the maize protease inhibitor gene directs high level, wound-inducible expression of the cry1B gene, which protects transgenic rice plants from stemborer attack. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 7, n. 4, p. 259–274, 2001.

BREITLER, J. C.; VASSAL, J. N.; CATALA, M. D. M.; MEYNARD, D.; MARFA, V.; MELE, E.; ROYER, M.; MURILLO, I.; SEGUNDO, S. B.; GUIDERDONI, E.; MESSEGUER, J. Bt rice harbouring cry genes controlled by a constitutive or wound-inducible promoter, protection and transgene expression under Mediterranean field conditions. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 2, n. 5, p. 417–430, Sept. 2004.

BRUNES, T. O.; RANGEL, P. H. N.; BRONDANI, R. P. V.; MOURA NETO, F.; NEVES, P. de C. F.; BRONDANI, C. Fluxo gênico entre arroz vermelho e arroz cultivado estimado por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 2, p.86-92, jun. 2007.

CASTRO, A. P. **Resistência à bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em maracujá amarelo via expressão da proteína heteróloga *Atacina a***. 2005. 151 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CASTRO, E. da M. de; BRESEGHELLO, F.; RANGEL, P. H. N.; MORAIS, O. P. de. Melhoramento do arroz. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: UFV, 1999. p. 95-130.

CHEN, L. J.; LEE, D. S.; SONG, Z. P.; SUH, H. S.; LU, B. R. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. **Annals of Botany**, London, v. 93, n. 1, p. 67-73, Jan. 2004.

CHEN, H.; TANG, W.; XU, C.; LI, X.; LIN, Y.; ZHANG, Q. Transgenic indica rice plants harboring a synthetic cry2A* gene of *Bacillus thuringiensis* exhibit enhanced resistance against lepidopteran rice pests. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 111, n. 7, p. 1330-1337, Nov. 2005.

COTSAFTIS, O.; SALLAUD, C.; BREITLER, J. C.; MEYNARD, D.; GRECO, R.; PEREIRA, A.; GUIDERDONI, E. Transposon-mediated generation of tDNA-free and marker-free rice plants expressing a *Bt* endotoxin gene. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 10, n. 3, p. 165–180, 2002.

CYRANOSKI, D. Pesticide results help China edge transgenic rice towards market. **Nature**, London, v. 435, n. 7038, p. 3, May 2005.

DATTA, K.; BAISAKH, N.; THET, K.M.; TU, J.; AND DATTA, S.K. Pyramiding transgenes for multiple resistance in rice against bacterial blight, yellow stem borer and sheath blight. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 106, n. 1, p. 1–8, Dec. 2002.

FERREIRA, E. Fauna prejudicial. In: SANTOS, A. B. dos; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. de A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. rev. ampl. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. p. 485-560.

FERREIRA, E. Insetos-pragas. In: STONE, L. F.; MOREIRA, J. A. A.; RABELO, R. R.; BIAVA, M. (Ed.). **Arroz: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 157-169.

FERRY, N.; EDWARDS, M.G.; GATEHOUSE, J.; CAPELLA, T.; CHRISTOU, P.; GATEHOUSE, A.M.R. Transgenic plants for insect pest control: a forward looking scientific perspective. **Transgenic Research**, London, v. 15, n. 4, p. 13–19, Feb. 2006.

FISCHHOFF, D. A.; BOWDISH, K. S.; PERLAK, F. J.; MAR-RONE, P. G.; MCCORMICK, S. M.; NIEDERMEYER, J. G.; DEAN, D. A.; KUSANO-KRETZMER, K.; MAYER, E. J.; ROCHESTER, D. E.; ROGRES, S. G.; FRALEY, R. T. Insect tolerant transgenic tomato plants. **Bio/Technology**, New York, v. 5, n. 8, p. 807-813, Aug. 1987.

FREIRE, E. C. Fluxo gênico entre algodoeiros transgênicos e comerciais e silvestres do Brasil. **Revista de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 6, n. 1, p. 471-482, 2002.

FREIRE, E.; BARROSO, P. A. V.; PENNA, J. C. V.; BORÉM, A. Fluxo gênico: análise do caso do algodão no Brasil. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, n. 29, p. 104-113, 2002.

FUJIMOTO, H.; ITOH, K.; YAMAMOTO, M.; KYOZUKA, J.; SHIMAMOTO, K. Insect resistant rice generated by introduction of a modified δ -endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis*. **Bio/Technology**, New York, v. 11, n. 10, p. 1151-1155, Oct. 1993.

HAIN, R.; SCHREIER, P. H. Genetic engineering in crop protection: opportunities, risks, and controversies. **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, Leverkusen, v. 49, p. 25-119, 1996. Número especial.

HAN, L. Z.; WU, K. M.; PENG, Y. F.; WANG, F.; GUO, Y. Y. Evaluation of transgenic rice expressing Cry1Ac and CpTI against *Chilo suppressalis* and intrapopulation variation in susceptibility to Cry1Ac. **Environmental Entomology**, College Park, v. 35, n. 5, p. 1453-1459, Oct. 2006.

HAN, L. Z.; WU, K. M.; PENG, Y. F.; WANG, F.; GUO, Y. Y. Efficacy of transgenic rice expressing Cry1Ac and CpTI against the rice leafhopper, *Cnaphalocrocis medinalis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 96, n. 1, p. 71-79, Sept. 2007.

HAN, L. Z.; LIU, P.; WU, K.; PENG, Y.; WANG, F. Population dynamics of *Sesamia inferens* on transgenic rice expressing Cry1Ac and CpTI in Southern China. **Environmental Entomology**, College Park, v. 37, n. 5, p. 1361-1370, Oct. 2008.

HUANG, D. F.; ZHANG, J.; SONG, F.; LANG, Z. Microbial control and biotechnology research on *Bacillus thuringiensis* in China. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 95, n. 3, p. 175–180, Jul. 2007.

HUANG, J.; HU, R.; ROZELLE, S.; PRAY, C. Insect-resistant GM rice in farmers' field: assessing productivity and health effects in China. **Science**, Washington, v. 308, n. 5722, p. 688–690, Apr. 2005.

HUSNAIN, T.; ASAD, J.; MAQBOOL, S. B.; DATTA, S. K.; RIAZUDDIN, S. Variability in expression of insecticidal Cry1Ab gene in indica basmati rice. **Euphytica**, Wageningen, v. 128, n. 1, p. 121–128, Nov. 2002.

IFT Expert report in food technology and foods: benefits and concerns associated with recombinant DNA biotechnology-derived foods. **Food Technology**, Chicago, v. 54, n. 10, p. 61-80, Oct. 2000.

INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY APPLICATIONS. **Bt insect resistance technology**. Manila, 2006. (Pocket K, n. 6). Disponível em: < [http://www.isaaa.org/kc/inforesources/publications/pocketk/Pocket_k6_\(English\).pdf](http://www.isaaa.org/kc/inforesources/publications/pocketk/Pocket_k6_(English).pdf) > . Acesso em: 20 nov. 2008.

JAMES, C. Global status of commercialized Biotech/GM Crops: 2006. (ISAAA Brief, 35). Disponível em: < <http://www.isaaa.org/RESOURCES/PUBLICATIONS/BRIEFS/35/executivesummary/default.html> > . Acesso em: 28 nov. 2008.

JAMES, C. Global status of commercialized Biotech/GM Crops: 2007. (ISAAA Brief, 37). Disponível em: < <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/37/executivesummary/default.html> > . Acesso em: 28 nov. 2008.

JIA, H. EU to monitor for Chinese GM rice. **Nature Biotechnology**, New York, v. 26, n. 5, p. 478, May 2008.

KHANNA, H. K.; RAINA, S. K. Elite indica transgenic rice plants expressing modified Cry1Ac endotoxin of *Bacillus thuringiensis* show enhanced resistance to yellow stem borer (*Scirpophaga incertulas*). **Transgenic Research**, London, v. 11, n. 4, p. 411–423, Aug. 2002.

KHUSH, G. S. What will take to feed 50 billion rice consumers in 2030. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 59, n. 1, p. 1-6, Sept. 2005.

KIM, S.; KIM, C.; LI, W.; KIM, T.; LI, Y.; ZAIDI, M. A.; ALTOSSAR, I. Inheritance and field performance of transgenic Korean Bt rice lines resistant to rice yellow stem borer. **Euphytica**, Wageningen, v. 164, n. 3, p. 829–839, Dec. 2008.

KOZIEL, M. G.; BELAND, G. L.; BOWMAN, C.; CAROZZI, N. B.; CRENSHAW, R.; CROSSLAND, L.; DAWSON, J.; DESAI, N.; HILL, M.; KADWELL, S.; LAUNIS, K.; LEWIS, K.; MADDOX, D.; MCPHERSON, K.; MEGHJI, M. R.; MERLIN, E.; RHODES, R.; WARREN, G. W.; WRIGHT, M.; EVOLA, S. V. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. **Bio/Technology**, New York, v. 11, n. 2, p. 194–200, Feb. 1993.

KUMAR, S.; CHANDRA, A.; PANDEY, K. C. *Bacillus thuringiensis* (Bt) transgenic crop: an environment friendly insect-pest management strategy. **Journal of Environmental Biology**, Muzaffarnagar, v. 29, n. 5, p. 641- 653, Sept. 2008.

LAJOLO, F. M.; NUTTI, M. R. **Transgênicos**: bases científicas da sua segurança. São Paulo: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2003. 112 p.

LOC, N. T.; TINJUANGJUN, P.; GATEHOUSE, A. M. R.; CHRISTOU, P.; GATEHOUSE, J. A. Linear transgene constructs lacking vector backbone sequences generate transgenic rice plants, which accumulate higher levels of proteins conferring insect resistance. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 9, n. 4, p. 231–244, 2002.

MAQBOOL, S. B.; RIAZUDDIN, S.; LOC, N. T.; GATEHOUSE, A. M. R.; GATEHOUSE, J. A.; CHRISTOU, P. Expression of multiple insecticidal genes confers broad resistance against a range of different rice pests. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 7, n. 1, p. 85–93, Jan. 2001.

MARFA, V.; MELE, E.; GABARRA, R.; VASSAL, J. M.; GUIDERDONI, E.; MESSEGUER, J. Influence of the developmental stage of transgenic rice plants (cv. Senia) expressing the cry1B gene on the level of protection against the striped stem borer (*Chilo suppressalis*). **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 20, n. 12, p. 1167–1172, Jun. 2002.

MARVIER, M.; MCCREEDY, C.; REGETZ, J.; KAREIVA, P. A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. **Science**, Washington, v. 316, n. 5830, p. 1475-1477, June 2007.

MENDELSON, M.; KOUGH, J.; VAITUZIS, Z.; MATTHEWS, K. Are Bt crops safe? **Nature Biotechnology**, New York, v. 21, n. 9, p. 1003-1009, Sept. 2003.

MESSEGUER, J.; FOGHER, C.; GUIDERDONI, E.; MARFÀ, V.; CATALÀ, M. M.; BALDI, G.; MELÉ, E. Field assessments of gene flow from transgenic to cultivated rice *Oryza sativa* L. using a herbicide resistance gene as tracer marker. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 103, n. 8, p. 1151–1159, Dec. 2001.

MESSEGUER, J.; MARFÀ, V.; CATALÀ, M.M.; GUIDERDONI, E.; MELÉ, E. A field study of pollen-mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 13, n. 1, p. 103–112, Jan. 2004.

MILHO *bt*: híbridos Pioneer com gene YieldGard. (Pioneer Responde - ago. 2008). Disponível em: < http://www.pioneersementes.com.br/upload/download/files/DownloadFile_183.pdf > . Acesso em: 12 ago. 2008.

MILNE, R.; KAPLAN, H. Purification and characterization of a trypsin like digestive enzyme from spruce budworm (*Christoneura fumiferana*) responsible for the activation of d-endotoxin from *Bacillus thuringiensis*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 23, n. 6, p. 663-673, Sept. 1993.

MORAIS, O. P. de; RANGEL, P. H. N.; FAGUNDES, P. R. R.; CASTRO, E. da M. de; NEVES, P. de C. F.; CUTRIM, V. dos A.; PRABHU, A. S.; BRONDANI, C.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. Melhoramento genético. In: SANTOS, A. B. dos; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. de A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. rev. ampl. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. p. 289-358.

NAYAK, P.; BASU, D.; DAS, S.; BASU, A.; GHOSH, D.; RAMAKRISHNAN, N. A.; GHOSH, M.; SEN, S. K. Transgenic elite indica rice plants expressing CryIAc ä endotoxin of *Bacillus thuringiensis* are resistant against yellow stemborer (*Scirphaga incertulas*). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 94, n. 6, p. 2111–2116, Mar. 1997.

PAIVA, E. Perspectivas do algodão transgênico no Brasil. **Cotton Business**, v. 2, p. 22-24, mar. 2007.

RAMESH, S.; NAGADHARA, D.; PASALU, I. C.; KUMARI, A. P.; SARMA, N. P.; REDDY, V. D.; RAO, K. V. Development of stem borer resistant transgenic parental lines involved in the production of hybrid rice. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 111, n. 2, p. 131–141, July 2004a.

RAMESH, S.; NAGADHARA, D.; REDDY, V. D.; RAO, K. V. Production of transgenic indica rice resistant to yellow stem borer and sap-sucking insects, using super-binary vectors of *Agrobacterium tumefaciens*. **Plant Science**, Limerick, v. 166, n. 4, p. 1077–1085, Apr. 2004b.

ROCHA, D. **Produtores de algodão festejam safra de 2008, mas alertam para queda na rentabilidade**. Disponível em: <<http://www.brasilatual.com.br/sistema/?p=1620>>. Acesso em: 12 nov. 2008

ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, New York, v. 24, n. 1, p. 63-71, Jan. 2006.

RONG, J.; LU, B.; SONG, Z.; SU, J.; SNOW, A. A.; ZHANG, X.; SUN, S.; CHEN, R.; WANG, F. Dramatic reduction of crop-to-crop gene flow within a short distance from transgenic rice fields. **New Phytologist**, Oxford, v. 173, n. 2, p. 346 -353, 2007.

SCHWEMBER, A. R. An update on genetically modified crops. **Ciencia e Investigacion Agraria**, Santiago do Chile, v. 35, n. 3, p. 231-250, sept./dic. 2008.

SHU, Q. U.; YE, G. Y.; CUI, H. R.; CHENG, X. Y.; XIANG, Y. B.; WU, D. X.; GAO, M. W.; XIA, Y. W.; HU, C.; SARDANA, R.; ALTOSAAR, I. Transgenic rice plants with a synthetic cry1Ab gene from *Bacillus thuringiensis* were highly resistant to eight lepidopteran rice pest species. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 6, n. 4, p. 433–439, Aug. 2000.

SHU, Q. Y.; CUI, H. R.; YE, G. Y.; WU, D. X.; XIA, Y. W.; GAO, M. W.; ALTOSSAR, I. Agronomic and morphological characterization of *Agrobacterium*-transformed *Bt* rice plants. **Euphytica**, Wageningen, v. 127, n. 3, p. 345–352, 2002.

SILVA-FILHO, M. C.; FALCO, M. C. Plantas transgênicas no melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento-plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 1011-1056.

SONG, Z. P.; LU, B.; ZHU, Y. Z.; CHEN, J. K. Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. **New Phytologist**, Oxford, v. 157, n. 3, p. 657–665, Mar. 2003.

TABASHNIK, B. E. Delaying insect resistance to transgenic crops. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 105, n. 49, p. 19029–19030, Dec. 2008.

TABASHNIK, B. E.; GASSMANN, A. J.; CROWDER, D. W.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. **Nature Biotechnology**, New York, v. 26, n. 2, p. 199-202, Feb. 2008.

TORRES, J. B.; RUBERSON, J. R. Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. **Transgenic Research**, London, v. 17, n. 3, p. 345–354, June 2008.

TU, J. M.; ZHANG, G. A.; DATTA, K.; XU, C. G.; HE, Y. Q.; ZHANG, Q. F.; KHUSH, G. S.; DATTA, S. K. Field performance of transgenic elite commercial hybrid rice expressing *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin. **Nature Biotechnology**, New York, v. 18, n. 10, p. 1101–1104, Oct. 2000.

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Biopesticides registration action document - *Bacillus thuringiensis* plant-incorporated protectants**. 2001. Disponível em: < http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/bt_brad.htm >. Acesso em: 20 out. 2008.

VAECK, M.; REYNAERTS, A.; HOFTEY, H.; JANSSENS, S.; DEBEUCKLEER, M.; DEAN, C.; ZABEAU, M.; VAN MONTAGU, M.; LEEMANS, J. Transgenic plants protected from insect attack. **Nature**, London, v. 328, n. 6125, p. 33-37, July 1987.

VALDERRAMA, A. M.; VELASQUEZ, N.; RODRIGUEZ, E.; ZAPATA, A.; ZAIDI, M. A.; ALTOSAAR, I.; ARANGO, R. Resistance to *Tecia solanivora* (Lepidoptera : Gelechiidae) in three transgenic Andean varieties of potato expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protein. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 100, n. 1, p. 172–179, Feb. 2007.

VALOIS, A. C. C. **Possibilidades de uso de genótipos modificados e seus benefícios**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 65 p. (Texto para discussão, 19).

VALOIS, A. C. C.; INGLIS, M. C. V.; CARNEIRO, V. T. C.; SUJII, E. R.; BUSTAMANTE, P. G.; AVIDOS, M. F. D. **Organismos transgênicos: visão estratégica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 21 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 39).

VASIL, I. K. The science and politics of plant biotechnology – a personal perspective. **Nature Biotechnology**, New York, v. 21, n. 8, p. 849-851, Aug. 2003.

VENDRAMIM, J. D.; NISHIKAWA, M. A. N. Melhoramento para resistência a insetos. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento-plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 737-781.

WANG, Z. G.; SHU, Q. Y.; YE, G. Y.; CUI, H. R.; WU, D. X.; ALTOSAAR, I.; XIA, Y. W. Genetic analysis of resistance of Bt rice to stripe stem borer (*Chilo suppressalis*). **Euphytica**, Wageningen, v. 123, n. 3, p. 379–386, 2002.

WENG, L. X.; DENG, H. H.; XU, J. L.; LI, Q.; WANG, L. H.; JIANG, Z. D.; ZHANG, H. B.; LI, Q. W.; ZHANG, L. H. Regeneration of sugarcane elite breeding lines and engineering of stem borer resistance. **Pest Management Science**, Sussex, v. 62, n. 2, p. 178–187, Feb. 2006.

WU, D. X.; SHU, Q. Y.; WANG, Z. H.; CUI, H. R.; XIA, Y. W. Quality variations in transgenic rice with a synthetic cry1Ab gene from *Bacillus thuringiensis*. **Plant Breeding**, Berlin, v. 121, n. 3, p. 198–202, June 2002.

YE, G. Y.; SHU, Q. Y.; YAO, H. W.; CUI, H. R.; CHENG, X. Y.; HU, C.; XIA, Y. W.; GAO, M. W.; ALTOSAAR, I. Field evaluation of resistance of transgenic rice containing a synthetic cry1Ab gene from *Bacillus thuringiensis*-Berliner to two stem borers. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 94, n. 1, p. 271–276, Feb. 2001.

Literatura recomendada

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA. CTNBio. <<http://www.ctnbio.gov.br>>

FAO. **The state of food and agriculture 2003-2004**: agricultural biotechnology meeting the needs of the poor?. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/006/Y5160E/Y5160E00.HTM>> .

HILBECK, A; ANDOW, D. A.; FONTES, E. M. G. **Environmental risk assessment of genetically modified organisms**: methodologies for assessing bt cotton in Brazil. Wallingford: CABI Publishing, 2006. 373 p.

NUFFIELD COUNCIL ON BIOETHICS. **The use of GM crops in developing countries**. Disponível em: <http://www.nuffieldbioethics.org/go/ourwork/gmcrops/page_218.html> .

