

GMO GUIDELINES PROJECT

ALGODÃO  Bt

República Federativa do Brasil

Luis Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Conselho de Administração

José Amauri Dimázio

Presidente

Clayton Campanhola

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Hélio Tollini

Ernesto Paterniani

Luis Fernando Rigato Vasconcellos

Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola

Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca

Herbert Cavalcante de Lima

Mariza Marilena T. Luz Barbosa

Diretores-Executivos

Embrapa Meio Ambiente

Paulo Choji Kitamura

Chefe Geral

Geraldo Stachetti Rodrigues

Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria Cristina Martins Cruz

Chefe-Adjunto de Administração

Ariovaldo Luchiari Junior

Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios



ISSN 1516-4691

Agosto, 2004

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 38

GMO Guidelines Project

Deise M. Fontana Capalbo
Eliana M. G. Fontes

Jaguariúna, SP
2004

Exemplares dessa publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Meio Ambiente
Rodovia SP 340 - km 127,5 - Tanquinho Velho
Caixa Postal 69 13820-000, Jaguariúna, SP
Fone: (19) 3867-8750 Fax: (19) 3867-8740
sac@cnpma.embrapa.br
www.cnpma.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Geraldo Stachetti Rodrigues
Secretário-Executivo: Maria Amélia de Toledo Leme
Secretário: Sandro Freitas Nunes
Membros: Marcelo A. Boechat Morandi, Maria Lúcia Saito, José Maria Guzman
Ferraz, Manoel Dornelas de Souza, Heloisa Ferreira Filizola, Cláudio
Cesar de A. Buschinelli
Normalização Bibliográfica: Maria Amélia de Toledo Leme
Capa: Luis Alexandre Sereda
Editoração eletrônica: Alexandre Rita da Conceição

1º edição

Todos os direitos reservados.

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

CAPALBO, Deise M. F.
GMO Guidelines project / Deise M. Fontana Capalbo, Eliana M. G. Fontes.--
Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004.
56p.-- (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 38).

ISSN 1516-4691

1. Plantas transgênicas. 2. OGM - Organismo geneticamente modificado.
I. Fontes, Eliana M. G. II. Título. III. Série.

CDD 631.523 3

© Embrapa 2004

Coordenadores

Deise M. Fontana Capalbo

Engenharia de Alimentos, Doutora.
Impacto Ambiental de Agentes de Controle Biológico e Biossegurança, Embrapa Meio Ambiente,
Rodovia SP 340 - Km 127,5 - Cep 13820-000,
Jaguariúna, SP. Email: deise@cnpma.embrapa.br

Eliana M. G. Fontes

Entomologia, Ph.D.
Ecologia de Insetos e Biossegurança, Embrapa
Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque EB WS
Norte (final) - Cep 70770-900 - Brasília, DF. Email:
eliana@cenargem.embrapa.br

Sumário

GMO Guidelines Project	7
Abertura	7
Projeto GMO Guidelines	9
Seção I - Formulação do problema e avaliação das opções	11
Seção II - Análise da estrutura e expressão de transgenes para eventos comerciais	16
Seção III - Impacto sobre organismos não alvo e biodiversidade	20
Introdução	20
Polinizadores, espécies visitantes florais e espécies de importância cultural e conservacionista	21
Polinizadores e polinívoros	21
Espécies de importância cultural e conservacionista	23
Pragas não-alvo	23
Protocolos para avaliação de risco	23
Outras recomendações	24
Predadores	26
Parasitóides	28
Considerações Finais	29
Plantas Invasoras	30
Micro e microbiota do Solo	31
Seção IV - Fluxo Gênico e suas consequências	35
Seção V - Evolução da resistência e manejo	46
Comentários e conclusões	50
Referências	52
Agradecimentos	54
Participantes do Workshop	55

GMO Guidelines Project

*Deise M. Fontana Capalbo
Eliana M. G. Fontes*

Abertura

O ano de 2003, no Brasil, certamente será lembrado pelo grande número de debates e manifestações sobre as plantas geneticamente modificadas (plantas GM ou mais popularmente os “transgênicos”), em especial a liberação temporária de plantio da soja resistente a herbicida e suas implicações legais, políticas e ambientais. Neste ano, a imprensa, escrita e falada, colocou os transgênicos na pauta de destaque, pondo em xeque não só o sistema regulatório mas também os dados disponíveis sobre impactos econômicos, ambientais, sociais e à saúde humana. Questões sobre a melhor forma de operação do sistema de avaliação destas plantas (seria o sistema atual o mais apropriado?) e o quanto este sistema estará preparado para responder aos desafios futuros (rastreadabilidade, eficácia, fluxo gênico, entre outros) estiveram em discussão tanto nos meios políticos como no meio científico e em debates públicos promovidos pelos diversos setores da sociedade brasileira.

Foi neste cenário que aconteceu, de 14 a 17 de junho, em Brasília, o II Workshop do Projeto Internacional “GMO-Guidelines”. O projeto é uma iniciativa internacional de pesquisadores do setor público que participam do Grupo de Trabalho Mundial sobre “Organismos Transgênicos no Controle Integrado de Pragas e Controle Biológico”, sob os auspícios da Organização Internacional de Controle Biológico (IOBC). Este projeto tem como objetivo principal desenvolver princípios científicos e guias internacionais detalhadas para os testes de biossegurança de plantas GM. Maiores informações podem ser obtidas no site do projeto <http://www.gmo-guidelines.info>.

Para atingir seus objetivos, este projeto se propõe a testar as guias metodológicas em três situações distintas de cultivo de variedades transgênicas, incluindo o ambiente de produção. Assim, três workshops foram previstos, um no Quênia, outro no Brasil e o terceiro no Vietnã. No Quênia a cultura escolhida foi o milho resistente ao ataque de insetos, e o workshop foi realizado em novembro de 2002. O Workshop do Vietnã será realizado em 2004, e a cultura será definida no final de 2003¹. O Workshop realizado no Brasil propôs o caso do algodão resistente ao ataque de inseto.

A perspectiva do grupo de pesquisadores envolvidos no Projeto, e no Workshop realizado no Brasil, foi testar as guias propostas, debatendo-se, numa situação hipotética de liberação de plantio de cultura geneticamente modificada em território nacional, as respostas obtidas seriam suficientes para suprir de informações um grupo de representantes de vários setores da sociedade, politicamente investido de autoridade para tomar a decisão de aprovar ou reprovar o plantio de tal cultura.

O relatório do Workshop, contido nesta publicação, apresenta os principais pontos de destaque oferecidos para o debate público realizado no dia 18 de junho, a um público de mais de 200 pessoas reunidas no Hotel Gran Bittar em Brasília, local onde também aconteceu o Workshop.

¹ Em abril de 2004 foi realizado o Workshop do Vietnã, na cidade de Ho Chi Min, tendo como cultura para estudo de caso, o algodão Bt.

Os destaques apontaram para sugestões como a de que o processo deve ser conduzido em etapas sucessivas que prevêem definições claras, tomadas de forma participativa por todos os grupos da sociedade representada; de que os protocolos ou guias devem apresentar quais os padrões, procedimentos experimentais e revisão de procedimentos devem preceder a introdução de um organismo geneticamente modificado (OGM) no ambiente; e também que os estudos devem gerar dados que permitam indicar sob quais circunstâncias (restritivas ou não) os OGM podem impactar a cadeia produtiva.

Este relatório pretende informar aos regulamentadores, aos políticos, aos pesquisadores e outros segmentos interessados, sobre o debate estabelecido neste projeto e especialmente aquele realizado no Workshop. Este documento não apresenta apenas recomendações, mas identifica pontos de destaque e fornece fatos para análise. Não há respostas certas ou soluções simples para os tópicos discutidos. Eles envolvem pontos subjetivos e considerações que podem indicar riscos e oportunidades, tudo isso sendo apresentado a um processo de exame público, que decidirá sobre o rumo a ser tomado.

Alguns representantes dos grupos de discussão do Workshop são os responsáveis pela preparação deste relatório. O conteúdo, entretanto, reflete com exatidão os principais tópicos apresentados e discutidos com o público presente ao Debate Público realizado. A revisão do conteúdo foi apresentada e aprovada pelo corpo técnico, de língua portuguesa e espanhola, do Projeto Internacional.

As opiniões aqui expressas não representam necessariamente o ponto de vista dos Ministérios que apoiaram a discussão, mas sim dos participantes do Workshop.

Deise M. Fontana Capalbo, Eliana M. G. Fontes. Junho / 2004.

Projeto “GMO Guidelines”

O projeto “GMO Guidelines” é uma iniciativa internacional de pesquisadores do setor público pertencentes ao Grupo de Trabalho sobre “Organismos Transgênicos no Manejo Integrado e Controle Biológico”, sob os auspícios da IOBC. O objetivo do projeto é elaborar um Guia científico internacional detalhado para avaliação de biossegurança de plantas geneticamente modificadas, baseado em sólidos princípios científicos. Ele é financiado pela Agência Suíça de Desenvolvimento e Cooperação (SDC) e está aberto à participação de cientistas ligados a instituições públicas de todos os países. Participam especialistas de instituições de pesquisa da Europa, Austrália, China, Estados Unidos, África Oriental, América do Sul e Sudeste da Ásia.

Este projeto prevê a coordenação para o desenvolvimento e implementação de guia para análise de biossegurança, com características de um processo progressivo e dinâmico, que inclui a capacitação técnica e científica além da comunicação entre pesquisadores e entre pesquisadores e os responsáveis pelo estabelecimento de políticas públicas. No seu escopo é proposta a publicação das sessões do Guia tão logo estejam completas, além da revisão rápida e atualizada de sessões já publicadas, sempre que se apresentem novos tópicos ou fatos sobre biossegurança.

O Guia de testes pode ser entendido como uma série de Módulos interligados, que tratam de questões científicas relativas à avaliação de risco e as metodologias científicas correspondentes que permitirão responder àquelas questões. Este Guia não terá legitimidade por si, mas as autoridades responsáveis pela regulamentação em diversos países poderão escolher parte ou o todo, segundo sua necessidade e interesse, com garantia de respaldo científico se baseados nas avaliações sugeridas.

O Guia será desenhado para uso “caso-a-caso” como especificado no Protocolo de Biossegurança e na Diretiva da Comunidade Européia sobre liberação de plantas Geneticamente Modificadas (GM). As metodologias nele contidas cobrirão os impactos ambientais (ambiente terrestre e aquático) e agrícolas das plantas GM, mas não incluirão conhecimento científico sobre os impactos sobre a saúde humana ou implicações éticas. A análise de custo (ou risco)-benefício não será abordada, pois ela pressupõe a determinação de valor do efeito, o que está além do alcance da metodologia científica; mas o Guia permitirá uma avaliação de qualquer efeito ambiental que, por sua vez, subsidiará uma análise de valores dentro do contexto político adequado.

O Guia não tem a forma de uma “árvore de decisão” mas pode ser facilmente incorporado a um esquema deste tipo. Para isso deverá ser adequado à situação do caso específico em análise, imbuído de aspectos regionais e/ou nacionais e ambientado nos requisitos regulatórios característicos àquele estudo.

O projeto “GMO Guidelines” detalhará pelo menos uma metodologia científica, para cada protocolo de avaliação, que permita atingir resultados concretos e cientificamente corretos. Estes protocolos também permitirão elaborar julgamentos sobre outros protocolos possíveis; dados já existentes poderão ser comparados com os obtidos pelo Guia (que servirão como um “padrão”), de forma a detectar, claramente, a consistência dos dados. Disponibilizando um conjunto de protocolos “padrão”, os dados de avaliação de risco poderão convergir e estabilizar ao redor deste padrão, o que permitirá obter respostas uniformes às questões ainda existentes sobre impacto ambiental, além de oferecer, adicionalmente, um caminho para coleta de dados que, ainda que não essenciais, são certamente muito úteis.

Os participantes do Projeto são membros do grupo geral - *core group* - ou pertencem ao conselho consultivo - *advisory board*. O *core group* é composto por três grupos regionais (África, América do Sul e Ásia) e cinco sessões científicas (Formulação do problema e análise das opções; Análise da expressão do transgene, locus & transmissão; Efeitos sobre organismos não alvo e biodiversidade; Manejo da resistência; Fluxo gênico e suas conseqüências). A coordenação do projeto está a cargo do Comitê Gestor – *steering committee*. Maiores detalhes sobre composição dos grupos e suas atribuições podem ser obtidas na página do projeto na Web: <http://www.gmo-guidelines.info>.

Na proposta do projeto, está previsto que o Guia e os protocolos serão testados em três estudos de caso correspondente às regiões à que pertencem os grupos regionais: África, América do Sul e Ásia. Cabe aos membros/coordenadores regionais a mobilização dos especialistas na escolha do estudo de caso da região, elaboração de documentos sobre o caso em estudo (incluindo a regulamentação de biossegurança característica de sua região) e a organização de um Workshop. No workshop será focado o caso selecionado, no contexto ambiental e agrícola daquela região.

Os três workshops (Quênia, Brasil e Vietnã) estão estruturados em duas partes: a primeira delas de três a quatro dias de discussão pelo grupo de trabalho constituído apenas por convidados. A segunda parte constitui um Dia

Público para debates, aberto a toda a sociedade interessada, incluindo regulamentadores, assessores do governo, representantes de organizações da sociedade civil e das indústrias, membros do Grupo Assessor do Projeto e todos participantes da primeira etapa do Workshop.

O Workshop do Brasil

Foi neste cenário previsto que o Workshop do GMO-Guidelines foi conduzido no Brasil. Ele foi estruturado para focar a avaliação de impactos de plantas transgênicas em processo de desenvolvimento comercial, usando o **algodão Bt** como estudo de caso. Plantas GM em estudo para fins não comerciais não foram discutidas.

Vários tipos de algodão Bt foram considerados, incluindo eventos desenvolvidos pelo setor privado – o Cry1Ac , o evento combinado Cry1Ac/Cry2Ab, e o evento VIP. A Embrapa também está desenvolvendo outros tipos de algodão Bt. Após exame das informações contidas no “Relatório Brasil para Algodão” (elaborado pelo Grupo brasileiro), pôde-se entender que a produção de algodão no Brasil se divide em três áreas principais, o *nordeste*, caracterizado por produção em pequena escala e menores rendimentos; o *meio-oeste*, onde se concentram as grandes áreas de produção com alto rendimento; e a região *meridional*, que é intermediária em relação às duas outras. Além disso se verificou que a região Amazônica, onde não há produção comercial de algodão, contem muitas espécies silvestre aparentadas com o algodão, compondo uma área de observação especial.

O relatório que se apresenta a seguir, foi coordenado pelos membros do Grupo Gestor e representantes Regionais, com aval dos membros do *core group* de língua portuguesa ou espanhola, e refletem as conclusões apresentadas no dia Público do Workshop.

Comitê Gestor		
Angelika Hilbeck	Deise M. F. Capalbo	Jill Johnston
A. N. E. Birch	Ellie Osir	Josephine Songa
B Bong	Eliana M. G. Fontes	K L Heong
David Andow	F. H. Wan	Kristen Nelson
David Somers	Gary Fitt	

SESSÃO I - Formulação do Problema e Avaliação das Opções - FPAO

Deise M.F.Capalbo, Kristen C. Nelson, Jason O. Duarte, Rubens O. Nodari, Ana L. Assad, Ednilza P. F. Dias, Evelyn Underwood, José E. Miranda, Le Quag Quyen, Lídio Coradin, Marcelo F. Simon, Maria J. A. Sampaio, Robério F. Santos, Silvio Valle

Como base para os trabalhos, foi lembrado que a sociedade necessita de itens básicos para sua sobrevivência, como por exemplo alimento, abrigo e segurança. Após o atingimento das necessidades básicas, outros interesses são buscados, e incluem numerosas opções de itens para o bem estar, como oportunidades econômicas, riqueza cultural, entre outros. E são os representantes legais de cada sociedade que, para solucionar os problemas, devem garantir o suprimento das necessidades e de outros interesses específicos.

As informações que constam neste Relatório foram propostas e utilizadas como *modelo* para o trabalho do grupo FPAO durante o Workshop. **Não é uma análise de risco do algodão Bt para controle de pragas do algodoeiro no Brasil. Trata-se de uma avaliação de conceitos e protocolos de orientação para uma análise de risco.**

No Workshop Brasil do Projeto GMO-Guidelines, 14 participantes, representando órgãos de pesquisa e regulamentadores do Brasil e do exterior, analisaram o modelo de FPAO através de um exercício simulado das etapas envolvidas. Ao final o grupo resumiu suas observações e principais destaques sobre o conteúdo do modelo no contexto brasileiro de deliberação sobre o algodão Bt.

Trabalho realizado durante o Workshop

Os participantes do Workshop analisaram o modelo de Formulação do Problema e Avaliação das Opções (FPAO) e o aplicaram à proposta apresentada como “caso” ou “problema” para estudo: uso de uma planta geneticamente modificada (planta GM) – o Algodão resistente a ataque de inseto, ou simplesmente algodão-Bt.

Qualquer avaliação de uma nova tecnologia (no caso, o algodão-Bt) será iniciada pela sugestão de que aquela tecnologia será uma alternativa benéfica com relação à forma como as atividades são realizadas normalmente naquele sistema de produção em particular. E a decisão sobre o mérito de se continuar a avaliar aquela tecnologia será indicada pelos órgãos competentes de um dado país ou região.

Nesta simulação de trabalho, os participantes do grupo de trabalho do Workshop definiram que o(s) órgão(s) do Governo teria(m) decidido que é desejável ver avaliada a planta GM como uma opção possível a ser utilizada, e portanto, se teria estabelecido o grupo de representantes de múltiplos setores da sociedade para realizar a FPAO. Foram entendidas como componentes / etapas do processo FPAO, os seguintes passos:

-
1. *Formulação do Problema*
 2. *Priorização e Contextualização do problema*
 3. *Definição do problema*
 4. *** Decisão pela autoridade – análise das opções**
 5. *Identificação das opções p/ solução do problema*
 6. *Avaliação das opções*
 7. *Mudanças necessárias previstas*
 8. *Impactos para o sistema*
 9. *** Decisão da autoridade – opção**
-

*Estas etapas envolvem a Autoridade constituída sobre o assunto, em cada país.

Estas etapas são apresentadas em mais detalhes a seguir.

Etapa 1- Formulação do Problema

Foi entendido pelo grupo que um *Problema* é uma *necessidade não atendida que requer mudanças*. Para o tema do Workshop, foi entendido que os OGM se inserem no contexto social brasileiro e mundial como mais uma opção tecnológica para suprir ao menos uma das necessidades básicas da sociedade. Assim, avaliou-se que é preciso entender o problema, analisar o risco envolvido para então deliberar sobre sua utilização ou não.

Para o panorama em estudo no Workshop, perguntas que deveriam ser discutidas, poderiam ser:

- *Quais necessidades da sociedade não foram atendidas pela situação atual?*
- *De quem é o problema?*
- *A quem mais o problema afeta?*
- *Quais aspectos da situação atual deverão ser mudados para atender as necessidades?*

Etapa 2: Priorização e Contextualização do Problema

Esta etapa requer um relatório sobre a situação PROBLEMA, que no Workshop foi apresentado aos participantes na forma de um Relatório do Algodão no Brasil, com tópicos sobre as questões regionais e nacionais, tanto econômicas como sociais e ambientais. Este relatório deve ser o mais abrangente possível. Ficou claro nesta altura do trabalho realizado no Workshop, que as questões apresentadas por este grupo de trabalho, devem ser respondidas pelos demais grupos de trabalho em que se dividiu o Workshop, demonstrando assim, claramente, a necessidade de um grupo de múltiplas disciplinas a ser consultado com frequência.

Questões “típicas” que serão consideradas e discutidas nesta etapa:

- *Este é um dos principais problemas ?*
- *A população reconhece o problema como importante ?*
- *Quais são as necessidades potencialmente competitivas?*
- *Quão importantes são as necessidades identificadas?*
- *Qual a extensão do problema?*
- *Quantas pessoas são afetadas ?*
- *Quão severo é o problema (local, regional)?*

Etapa 3: Definição do Problema

Consideradas e debatidas as duas etapas anteriores, os atores do processo estão prontos para efetuar a DEFINIÇÃO do problema. Assim, o grupo de trabalho neste Workshop redigiu a Problema da seguinte forma:

“Nos períodos de alta infestação, lagartas da Ordem Lepidoptera causam redução no rendimento, aumentando as aplicações de inseticidas: (*) aumentando o custo de produção, (*) afetando a saúde dos agricultores; (*) causando poluição ambiental (sistemas solo/água); (*) tornando o planejamento mais difícil e arriscado. Nas regiões Centro-Oeste, Meridional e no Oeste da Bahia, lagartas da Ordem Lepidoptera são problema de importância moderada a alta, dependendo de influências climáticas, sistemas de manejo agrônomico sub-regional, complexo de pragas, entre outras.”

Etapa 4: Decisão pela Autoridade

Uma vez redigido o problema, de forma consensual, este é levado à autoridade para definir se deve seguir na viabilização de opções e conduzir o processo de avaliação das opções.

Para efeito do Workshop, onde se desejava verificar se a proposta seria exequível na situação brasileira, os participantes simularam um “sim” como sendo a resposta a ser obtida das autoridades constituídas.

Para facilitar a visualização das etapas subseqüentes, das opções a serem analisadas e a avaliação de cada uma, foi elaborada uma tabela do tipo da que segue:

Etapa 5	Etapa 6	Etapa 7	Etapa 8	
Identificação	Características e Benefícios das Opções	Mudanças Previstas	Impactos Adversos ao Sistema	
			Interno	Externo
<i>Opção A</i>				
<i>Opção B</i>				
<i>Opção C</i>				

Etapa 5: Identificação das Opções e Tabela de Avaliação

Várias foram as opções apresentadas pelos presentes, baseados no Relatório do Algodão no Brasil e em suas experiências próprias.

- Algodão Bt
- Aplicação de Inseticidas
- Controle Biológico, utilizando vespas (*Trichogramma*)
- Manejo Integrado de Pragas: com e sem inseticidas
- Diversas Práticas Orgânicas

Esta não foi uma FPAO completa para o algodão-Bt, dado o número de especialistas presentes e o tempo disponível para testar todas as etapas. O objetivo era percorrer todas as etapas do modelo proposto, avaliar as questões apresentadas, discutir a possibilidade de obter as respostas desejadas e também um formato adequado para apresentá-las ou inserí-las no cenário da regulamentação brasileira. Por isso, apenas as seguintes opções para controle de Lepidoptera, foram consideradas: (*) Algodão Bt; (*) Inseticidas; (*) Controle Biológico

Etapa 6: Avaliação das Opções

Nesta etapa, vários itens devem ser analisados para cada opção:

- características,
- alcance potencial,
- barreiras,
- benefícios,
- possibilidade de ser aplicada em outros sistemas de produção,
- práticas que serão fortalecidas,
- capacidade de resolver o problema.

Etapa 7: Mudanças Necessárias Previstas

Para esta etapa do trabalho, são avaliadas quais as mudanças que devem acontecer nas

- práticas de gerenciamento da propriedade agrícola
- comunidade local
- apoio do governo aos agricultores
- estrutura de produção agrícola

e ainda, outras, que possam facilitar a adoção da opção.

Etapa 8: Impactos para o Sistema

Estudos, trabalhos de campo e outras publicações e consultas fornecerão subsídios para que se possa responder a questões do tipo:

1. *Como a solução pode favorecer práticas inadequadas ou prejudicar práticas adequadas?*
2. *Como a solução pode afetar a estrutura ou a infraestrutura da agricultura?*
3. *Quais os efeitos potenciais adversos destas mudanças, internas e externas, para os sistemas vizinhos?*
4. *Algumas das mudanças antevistas são irreversíveis após seu estabelecimento?*

Etapa 9: Decisão pela Autoridade

Encerram-se as discussões do grupo de representantes dos diversos setores da sociedade e é apresentado um relatório para a Autoridade.

A legitimidade do grupo de representantes deve ser a tradicional, sancionada por um corpo político formal, responsável pelo processo deliberativo. Este processo deve estar estabelecido por uma autoridade regulatória ou legislativa, e é imprescindível que esta autoridade forneça os resultados obtidos da análise para que o governo decida e possa executar a ação decisória.

Cada país desenvolve seu processo decisório / deliberativo para atender à sua estrutura particular. Para alguns sistemas políticos a autoridade legítima incorpora as análises de risco em seu sistema legislativo, em outros há a necessidade de incorporar o processo de análise de risco numa consulta pública que antecede a regulamentação final, ou ainda a sociedade civil discute através de sua organização e leva suas conclusões aos organismos de decisão formais.

Qualquer que seja o processo, a Formulação do Problema e Análise das Opções é indispensável.

Principais conclusões e destaques apontados pelo Grupo no Workshop

Destaque 1

O processo FPAO é uma idéia muito interessante e pode ser aplicado a qualquer tecnologia, porém ele é essencial para os OGM. Ele deve considerar o princípio da precaução numa análise caso-a-caso.

Destaque 2

FPAO mostrou ser particularmente útil para o estabelecimento de um diálogo construtivo e para estabelecimento de acordos.

Destaque 3

Para que o processo FPAO seja bem sucedido, a nação deve ter um processo regulatório estabelecido, o que permitirá que as incertezas sobre os OGM sejam reduzidas. O processo FPAO pode auxiliar no início das discussões sobre as opções de regulamentação possíveis.

Destaque 4

A discussão de estudo de caso favorece o surgimento de novas idéias a respeito de tópicos chaves e na construção do consenso.

Destaque 5

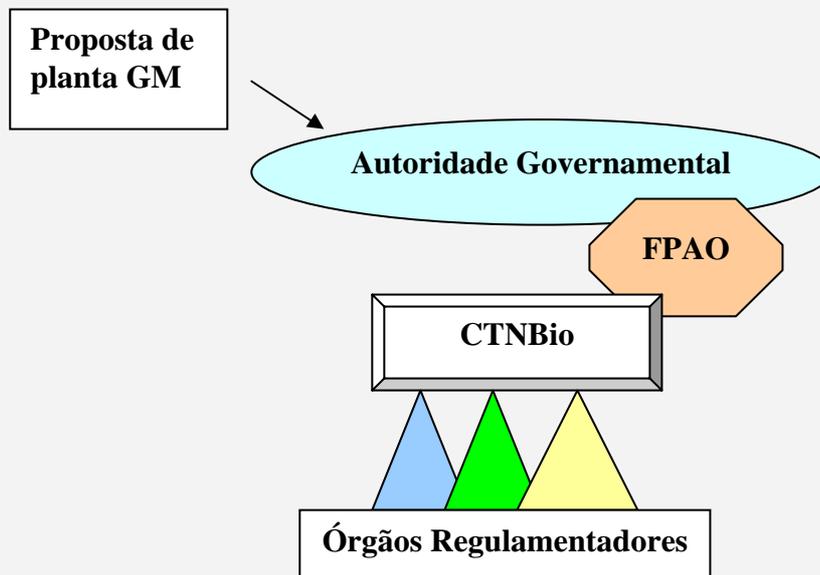
Questões adicionais fortalecem a FPAO: *Que perdas de produtividade tem ocorrido como resultado do problema? Ambientais? Sociais? Econômicas? Como seu uso afetará o meio ambiente? Como seu uso afetará a conservação da variabilidade genética da espécie e da biodiversidade relacionada?*

Destaque 6

É desejável que processo FPAO seja organizado por autoridades governamentais e discutido por um grupo representativo dos diversos setores da sociedade.

Destaque 7

Sugere-se que o processo FPAO, no Brasil, seja incorporado na formulação de políticas e na regulamentação.



Destaque 8

Um banco de informações deve ser sistematizado para embasar a discussão no processo FPAO.

Destaque 9

No Brasil, o processo FPAO poderia ocorrer em dois momentos:

O primeiro encontro aconteceria antes da avaliação de risco, para realizar a formulação do problema e a revisão preliminar das opções.

O segundo encontro ocorreria quando os resultados dos estudos de laboratório e de campo puderem ser incluídos no processo FPAO.

Destaque 10

O processo FPAO serve como fundamento para desenhar estratégias de monitoramento futuro dos impactos da Opção, no meio ambiente e na sociedade.

Além dos 10 pontos de destaque os participantes deste grupo de trabalho identificaram a aplicabilidade do modelo FPAO ao caso em estudo, em particular, e a outros procedimentos de análise, e concluíram que ele favorece a identificação de pontos fortes e pontos fracos do objeto de análise. Entenderam que o modelo favorece o diálogo, necessita de dados de especialistas e requer muito poucas adaptações para ser aplicado à realidade brasileira. Seu ponto fraco é que ele será tão bom quanto a qualidade dos especialistas e membros presentes à reunião, podendo ser cansativo e longo, além de que, se o grupo for muito grande, ele poderá ser inefetivo pela dificuldade de organizar opiniões e pareceres numerosos num documento conclusivo.

Outro alicerce da FPAO é a fundamentação científica dos dados: as respostas são obtidas através de dados, os impactos são avaliados com indicadores válidos, e o limite de entendimento está claramente delineado pela pesquisas e suas metodologias que levam em consideração as incertezas advindas dos limites não atingidos pelo conhecimento humano. A FPAO é, assim, uma oportunidade ímpar para que um grupo representativo dos vários setores da sociedade revejam a extensão do problema, o mérito do rol de opções possíveis que se apresentam para solucionar o problema, e determinar a opção de apoiar ou não a tecnologia, baseado nos méritos desta tecnologia em relação às demais opções.

Apesar do grupo de trabalho ser formado por pessoas de diversas nacionalidades e especialidades, isto não impediu que se elaborassem pontos de consenso para as questões de FPAO. Como em qualquer análise ou avaliação, os participantes se sentiram encorajados a discutir abertamente os tópicos pertinentes ao uso de algodão-Bt, baseados em sua vivência e experiência. Como o tempo não era suficiente para discussões profundas de cada tópico, apenas os tópicos considerados “chave” foram aqui apresentados. Por exemplo, na seleção de várias alternativas tecnológicas para solução do problema, os participantes apresentaram uma lista de várias opções de manejo de insetos porém selecionaram apenas aquelas que indicavam cenários contrastantes para as etapas posteriores do trabalho no Workshop.

Observou-se que para o bom andamento dos trabalhos, foi muito importante estabelecer os passos a serem trilhados e a ordenação dos tópicos para discussão. Além disso, um grupo representativo dos vários segmentos da sociedade deve ser constituído para realizar a FPAO, uma vez que os grupos a serem afetados pelo problema e/ou pela implantação da(s) opção(ões) é o centro da análise.

O processo decisório sobre a mudança a ser realizada com a solução do problema, deve ser legítimo segundo a estrutura da Nação, transparente, formalmente estabelecido pelo Governo, racional, cientificamente embasado e específico para cada país. Só assim os países poderão avaliar suas necessidades mais prementes, os riscos relativos às múltiplas opções existentes, estabelecer controles que reduzem os riscos para a sociedade e favorecer os benefícios provenientes das várias opções.

SESSÃO II - Análise da estrutura e expressão de transgenes para eventos comerciais

Maria de Fátima Grossi de Sá, Marlinda Lobo P. de Souza, Eduardo Romano, Alexandre Nepomuceno, Dave Somers, Ellie Osir, Nelson Amugune, Tran Thi Cuc Hoa, Truong Nam Hai, Wagner Alexandre Lucena

Questões científicas ligadas à avaliação de risco

A caracterização da estrutura, expressão e transmissão de transgenes fornecem informações importantes que devem ser consideradas nas análises de segurança ambiental e alimentar. Por outro lado, uma série de procedimentos pode ser realizada no momento de construção do vetor e na obtenção de plantas transgênicas que irão facilitar, ou mesmo eliminar alguns ensaios de biossegurança. Desta forma, esta sessão foi dividida em quatro partes. Na primeira parte, são descritas características de construções e de eventos transgênicos que são desejáveis e podem facilitar as posteriores análises de biossegurança. Nas partes seguintes são descritas as diretrizes para avaliação de estrutura do *locus* do transgene (análise genotípica), expressão do transgene (análise fenotípica) e transmissão do transgene para as progênes.

1 - Características de construções e de eventos transgênicos desejáveis

A – Desenho de elementos que reduzam o risco ou a necessidade de avaliação de risco.

A escolha de construções e eventos transgênicos que possuam as características descritas a seguir, facilitarão as análises de biossegurança. Deve ficar claro que o não cumprimento destas regras não implica que um evento não seja considerado seguro. Estas regras apenas funcionam como agentes facilitadores das análises de segurança.

- 1- O gene marcador deve ser previamente caracterizado, e possuir produto gênico inócuo ao ser humano. A condição ideal seria o não uso de gene marcador de seleção.
- 2- O evento transgênico deve possuir poucos *loci* transgênicos. A condição ideal seria um único *locus*.
- 3- Cada *locus* transgênico deve possuir poucas cópias do transgene. A condição ideal seria uma única cópia.
- 4- O *locus* do transgene não deve possuir DNAs extras (por exemplo seqüências não pertencentes ao T-DNA no caso de transformação por *Agrobacterium tumefaciens*).
- 5- A seqüência flanqueadora do transgene não deve conter rearranjos ou ter rearranjos mínimos.

B – Detalhes na produção essenciais para monitoramento.

O método de transformação indica a provável natureza e a dimensão de rearranjos que podem ser criados no *locus* transgênico. Da mesma forma, o conhecimento da seqüência de DNA inserida no genoma da planta é essencial para a caracterização de estrutura do *locus* transgênico e para determinação da ausência ou presença de partes do transgene original no *locus* transgênico.

Exemplos de informações na produção da planta transgênica que devem ser fornecidas:

- 1- Qual o método de transformação?
 - A - Se o método de biobalística foi usado, que parte do vetor com o transgene foi inserido no genoma da planta?
 - B - Se o método de *Agrobacterium* foi utilizado, foi empregada alguma estratégia para eliminar o marcador de seleção e para selecionar eventos que não possuem seqüências do vetor além das contidas no T-DNA?
- 2- Qual a seqüência e qual o mapa do vetor introduzido? Isso permite determinar se existe expressão de genes não desejados (ex: genes bacterianos como marcadores de seleção, "plasmid backbones") que deva ser considerada.
- 3- Qual a seqüência do transgene no *locus* transgênico?
- 4- Qual a especificidade de expressão dos transgenes e do gene marcador em cada tecido?

2 - Estrutura do locus do transgene (análise genotípica)

A caracterização da estrutura do *locus* é importante em várias etapas da análise do produto e irá permitir:

1. monitorar a possibilidade de ocorrência de mutagênese insercional em genes endógenos,
2. avaliar a possibilidade de expressão ectópica do transgene (expressão ectópica é a expressão de um gene em um tecido no qual normalmente este não é expresso). Isso pode ser causado por justaposição do transgene a um gene endógeno durante a integração.
3. analisar a possibilidade da integração do transgene criar uma nova fase de leitura aberta (ORF). Estas novas ORFs poderiam permitir o transgene expressar produtos gênicos não desejados, os quais poderiam resultar em riscos ambientais e de saúde.
4. identificar seqüências repetidas no *locus* transgênico que poderiam aumentar a probabilidade de recombinação homóloga, que, por sua vez, resultaria em instabilidade intra-*locus* ou ainda recombinação ectópica e possíveis mudanças do transgene para outros sítios no genoma vegetal.
5. avaliar a possibilidade teórica de um transgene ter sido incorporado em um elemento de transposição, dessa forma, resultando em possível alteração do local onde o transgene se integrou (situação até o momento não relatada pela literatura).

Na maior parte dos casos, a análise por *Southern blot* é suficiente para caracterizar a estrutura do *locus* e o número de cópias de transgenes. As análises por *Southern* realizadas por várias gerações são desejáveis para garantia de que o *locus* transgênico é estável e afirmar se múltiplas cópias estão geneticamente ligadas ou não. Essas análises devem ser realizadas de forma rigorosa para determinar o número de cópias, número de *locus* e constatar a presença de todo o DNA introduzido no genoma vegetal, incluindo, plasmídeo e seqüências do vetor binário adicionais ao T-DNA.

O sequenciamento do *locus* transgênico é recomendado para investigação de possíveis rearranjos e alterações no DNA genômico que flanqueia o transgene. A seqüência do *locus* transgênico também permite o desenho de sondas e oligonucleotídeos iniciadores para PCR visando análises posteriores da herança e estabilidade do *locus* e para rastreabilidade do *locus* transgênico.

Com base na estrutura do *locus* transgênico as seguintes questões podem ser indagadas:

1. *Quantos loci transgênicos estão na planta?* Plantas de reprodução sexual podem ser analisadas pelos dados de análise molecular e segregação genética. Em plantas de reprodução vegetativa, como batata ou banana, a análise de segregação não pode ser realizada e, portanto o número de eventos de integração podem ser caracterizados através de *Southern blot* ou hibridização *in situ* (FISH).
- 2- *Quantas cópias do transgene estão integradas em cada locus?* Múltiplas cópias de transgenes ligados ou rearranjados podem levar ao silenciamento do transgene.
- 3- *O locus do transgene é nuclear ou citoplasmático?* Transgenes integrados em genoma citoplasmáticos vão ser transmitidos diferencialmente dependendo da espécie em questão. A forma de herança mais comum é materna. No caso de herança materna os transgenes não podem ser transmitidos através de grãos de pólen, o que deve ser considerado nas análises de fluxo gênico.
- 4- *Qual a seqüência do locus transgênico?* A seqüência de DNA para cada *locus* transgênico, incluindo o DNA genômico que flanqueia deve ser fornecido.
- 5 - *Existem ferramentas moleculares de monitoramento?* Ferramentas tais como oligonucleotídeos iniciadores para PCR e sondas para *Southern blot*, baseadas na seqüência do *locus* transgênico, podem ser usadas para monitorar a estrutura do transgene na variedade comercial e seus derivados, ambos com relação à estabilidade e a rastreabilidade do *locus* transgênico.
- 6- *São as variedades obtidas derivadas do evento transgênico original?* Enquanto as análises descritas acima são conduzidas principalmente no evento transgênico original, alguns dados podem ser fornecidos para cada variedade transgênica comercial gerada a partir do evento original. Por exemplo, uma vez que as informações são geradas para o evento original, análises posteriores poderiam ser feitas através de PCR para confirmação da integridade e correta localização do transgene.

3 - Expressão dos transgenes (fenótipo)

A análise fenotípica permite obter informações relevantes sobre a expressão do gene alvo e do marcador, efeitos pleiotrópicos e efeito da interação do meio ambiente no genótipo. As seguintes questões podem ser formuladas para compreensão desses eventos:

3.1 - Expressão do gene alvo

Promotor do gene alvo: Qual é o promotor de cada transgene?

- Se existe mais que um gene alvo, os promotores são idênticos?
- Baseado no promotor, onde e quando se espera que o transgene seja expresso?

Produto do gene alvo: Quais são os produtos de expressão na planta (RNA e proteína)? Os produtos do transgene têm propriedades similares das previstas a partir do transgene da construção original ou do produto de ocorrência natural e isto afeta a sua atividade? Se não, como foi demonstrado que a diferença não importa?

- Que método foi usado para extrair e medir a concentração do produto?
- Qual o padrão de expressão do gene alvo entre os tecidos da planta?
- Como este padrão de expressão muda durante o desenvolvimento da planta?
- Qual a uniformidade da expressão entre plantas?

Fenótipo da planta: Qual o fenótipo que o transgene expressa na planta? (por exemplo: para genes *cry*, a eficácia de controle da praga alvo é o fenótipo relevante)

- Mensurando o fenótipo: Como o fenótipo foi avaliado? Por exemplo, como a eficácia foi avaliada? Incluir protocolos, fonte de materiais e outros.
- Como os diferentes métodos para avaliação do fenótipo se relacionam uns com os outros?

3.2 - Expressão do gene marcador de seleção

Se a construção original contém gene marcador, listar todos os genes marcadores com seus respectivos promotores. Qual é o histórico de uso/ preocupações / problemas de cada promotor/ marcador?

Presença do DNA marcador. O *locus* transgênico possui o gene marcador?

- Se contiver, qual é o marcador e qual é o promotor? Qual é a seqüência do gene marcador?

Análise do promotor. O promotor é ativo na planta?

- Se o promotor é ativo, conduzir análise do produto do gene marcador que se encontra a seguir.
- Se o promotor não é ativo qual é a evidência que permite demonstrar esse fato?

Ausência de expressão do gene marcador: Se o gene está presente, mas não é expresso, a expressão é interrompida a nível de DNA, RNA ou proteína?

- O gene marcador é transcrito? O que deveria ocorrer para permitir que o gene marcador seja transcrito?
- O produto de transcrição é traduzido em proteína? O que seria necessário para que o gene marcador fosse traduzido?
- A proteína é inativa? Que evidência demonstra isso? Qual é o padrão de expressão da proteína inativa? A proteína que está inativa poderia ter alguma outra função na planta ou algum risco potencial para a saúde ou o ambiente?

Análise do produto gênico: Qual é o produto gênico resultante da expressão do gene marcador? Ele é idêntico ao produto do gene que ocorre na natureza? Caso contrário, é possível demonstrar que essa diferença não afeta a planta resultante? Que método foi utilizado para medir a concentração do produto gênico do marcador? Qual é o padrão de expressão do gene nos diferentes tecidos vegetais? A expressão é constante em diferentes ambientes?

3.3 - Efeitos em outras características. (efeitos pleiotrópicos)

Possíveis efeitos que afetam características como produtividade, devem ser avaliadas pela performance no campo. Efeitos na composição química devem ser conduzidos nas partes da planta que são consumidas.

3.4 - Interação genótipo – ambiente

A expressão do transgene pode ser influenciada por fatores ambientais e, portanto, ensaios em diferentes ambientes devem ser conduzidos para avaliar se características como produtividade e proliferação de aflatoxinas em milho se alteram nestes diferentes ambientes.

4. Transmissão do transgene.

A expressão e transmissão correta dos transgenes por sucessivas gerações é mais uma característica importante que deve ser levada em consideração nas análises de risco. Desta forma, as diretrizes que seguem, visam responder questões que permitem avaliar se os transgenes estão sendo corretamente transmitidos para as progênies.

4.1 Transmissão

- O fenótipo do transgene é herdado de acordo com as leis mendelianas?
- O padrão de herança é consistente por múltiplas gerações?

4.2 Transmissão intencional do transgene para outras variedades através de cruzamentos.

Alterações na transmissão dos transgenes devem ser avaliadas em cada variedade nas quais o transgene foi introduzido por cruzamentos. Desta forma a expressão dos transgenes deve ser avaliada em cada variedade.

- Como se dá a variação da expressão do transgene em diferentes bases genéticas e como esta variação pode afetar a eficácia da característica conferida pelo transgene? Como esta alteração pode influenciar em riscos ambientais? A expressão nestes novos genótipos é aumentada ou reduzida?
- Por quantas gerações e em quais ambientes a expressão do transgene foi avaliada?

4.3 Transmissão não intencional do transgene para outros genótipos através de cruzamentos.

- Existem "land races" ou espécies silvestres aparentadas para as quais o transgene pode ser transferido através de polinização?
- Os potenciais genótipos receptores possuem o mesmo sistema de cruzamento e estrutura cromossômica que a planta transgênica?
- Como a expressão do transgene é alterada nestes novos genótipos e como esta variação afeta a eficácia da característica conferida pelo transgene? Existem riscos ambientais associados?
- Por quantas gerações e ambientes a expressão do transgene nestes cruzamentos foi avaliada?

4.4 Interações com outros transgenes

Melhoristas podem utilizar eventos transgênicos para piramidização de características através de retransformação de um evento transgênico ou ainda, cruzando dois eventos transgênicos de forma que seja criada uma variedade com diferentes transgenes. No entanto a presença de mais de um transgene contendo um mesmo promotor, pode levar a silenciamento dos transgenes que compartilham este elemento. Que tipos de elementos devem ser evitados de serem utilizados na piramidização a fim de evitar fenômenos de silenciamento?

SESSÃO III - Impacto sobre organismos não alvo e biodiversidade

Edison R. Sujii, Eliana M.G. Fontes, Carmen S. S. Pires

Introdução

A biodiversidade possui um valor intrínseco, atualmente reconhecido pela sociedade, devido aos serviços ecológicos diretos como o provimento de matérias primas para uso pelo homem e recursos genéticos para desenvolvimento de suas atividades econômicas (agricultura, pecuária, pesca entre outros). Além desses, a biodiversidade presta serviços ecológicos indiretos que garantem o suporte à vida no planeta, através do funcionamento adequado dos ecossistemas naturais e agrossistemas. Esses serviços indiretos incluem a produção primária de biomassa e seqüestro de carbono através da fotossíntese, a ciclagem de substâncias e nutrientes através de organismos decompositores, simbioses e microrganismos, a dinâmica, regulação e controle de populações através de interações bióticas como polinização, dispersão e controle biológico (predação e parasitismo).

A atividade agrícola extensiva é um dos principais fatores de risco à biodiversidade, primariamente pela destruição e fragmentação de *habitats* e secundariamente pela simplificação e poluição desses *habitats*. Um outro fator de risco à biodiversidade, decorrente da atividade antrópica, é a introdução de organismos (animais, plantas e microrganismos) em novos *habitats*. Nesse contexto podemos considerar que plantas GM, devido à inserção de novos genes inexistentes no *pool* gênico da espécie e expressão de características totalmente novas, podem afetar direta ou indiretamente a biodiversidade nos locais onde é introduzida.

Plantas GM desenvolvidas para resistir a insetos praga podem potencialmente produzir impactos positivos ao ambiente devido à redução de uso de inseticidas químicos na cultura com os conseqüentes benefícios associados. Esses benefícios incluem, entre outros, a redução de poluição por resíduos tóxicos no ambiente (solo, água e alimentos ou material prima), segurança do trabalhador e possível aumento no controle biológico natural. Por outro lado, impactos potenciais negativos como a redução de inimigos naturais e outras espécies benéficas e o aumento de pragas não alvo podem ocorrer devido ao plantio em larga escala desse tipo de plantas.

Os objetivos dos sub-grupos de trabalho, que compõem o grupo que avaliou o potencial impacto do algodão GM resistente a insetos sobre as espécies não alvo da tecnologia, foram:

- Selecionar, entre o grande número de espécies presentes nos ecossistemas agrícolas e naturais, aquelas que podem ser afetadas pelo OGM, através da avaliação de risco.
- Desenvolver protocolos para conduzir a avaliação em um processo lógico de estágios seqüenciais.

A abordagem para alcançar os objetivos propostos foi de dividir a biodiversidade em suas principais funções ecológicas e avaliar o efeito do OGM em cada função. Para tanto, foram desenvolvidos procedimentos transparentes em bases científicas e testada sua validade considerando o algodão Bt como estudo de caso.

Algumas limitações decorrentes dessa abordagem foram enfrentadas e contornadas pelo grupo. Não foi possível considerar toda a biodiversidade das áreas, dessa forma as espécies mais abundantes e melhor descritas foram alvo de maior consideração e a experiência dos especialistas brasileiros que atuam em diferentes regiões do país teve papel relevante nos trabalhos.

Lacunas significativas no conhecimento foram detectadas e produziram incertezas em alguns momentos da discussão. Essa limitação foi parcialmente contornada usando a abordagem do *pior cenário*, segundo o Protocolo de Cartagena.

Os grupos/funções ecológicas selecionados para avaliação do potencial impacto causado pelo algodão Bt foram:

- Polinizadores, polívoros e espécies com interesse conservacionista
- Herbívoros
- Predadores
- Parasitóides
- Plantas invasoras
- Organismos de solo

Além dos grupos acima selecionados, um integrante de cada grupo foi destacado para compor um grupo encarregado de avaliar, dentro do processo de desenvolvimento de plantas GM, quais seriam os estágios adequados para a realização de cada estudo ou teste proposto para a avaliação de riscos.

O critério para seleção das espécies mais importantes, para cada função ecológica selecionada, foi uma classificação considerando as seguintes características:

- Distribuição geográfica
- Especialização de habitat
- Proporção do habitat ocupado
- Abundância no algodão e outras plantas
- Sincronismo do ciclo de vida com o algodão
- Especialização do hábito alimentar
- Probabilidade de exposição – direta
- Probabilidade de exposição – indireta
- Potencial de dano (para herbívoros-praga).

Cada espécie foi analisada individualmente recebendo uma pontuação que variou de 1 (alta) a 3 (baixa) para cada característica e as espécies consideradas mais importantes emergiram da classificação final do conjunto de características analisadas.

Polinizadores, Espécies Visitantes Florais e Espécies de Importância Cultural e Conservacionista

Carmen S.S. Pires, Salvatore Arpaia, Vera L. Imperatriz Fonseca, Fernando A. Silveira, Hoang Ngoc Binh, Sonja Mayra Righetti

Este grupo de trabalho avaliou os possíveis impactos do algodão Bt sobre o grupo de visitantes florais, incluindo os polinizadores e insetos que se alimentam de pólen e néctar, e as espécies de insetos de interesse cultural e conservacionista. Assim se trabalhou com a hipótese de que se as plantas de algodão Bt expressarem as proteínas do *Bacillus thuringiensis* nos grãos de pólen e néctar, os organismos que se alimentam nesses recursos poderão ser diretamente afetados.

1. Polinizadores e Polinívoros

A fecundação nas plantas de algodão acontece logo após a antese, podendo ocorrer autofecundação e/ou polinização cruzada. A influência dos polinizadores na produção comercial é considerada, em geral, desprezível. Contudo é conhecido que a produção de sementes e plumas é menor nas plantas onde as flores foram isoladas do que nas plantas polinizadas livremente (Stephens, 1956). Simpson (1954) relatou os vários fatores que podem influenciar as taxas de fecundação cruzada em campos de algodão e demonstrou a importância dos insetos polinizadores neste processo. Devido ao tamanho relativamente grande dos grãos de pólen do algodoeiro (81 a 143 microns) e à formação de grumos devido à viscosidade dos mesmos, não há relatos de transporte de pólen pelo vento (Barroso & Freire, dados não publicados). Assim, para que haja fecundação cruzada é necessária a presença de polinizadores. Os insetos visitantes das flores de algodão são pouco conhecidos no Brasil. O trabalho de Malerbo-Souza *et al.* (2002), aparentemente o único registro de visitantes às flores do algodoeiro no Brasil (Silveira, não publicado) cita *Apis mellifera*, com 50% das visitas, e *Trigona* spp. (irapuás) com 1%. Os mesmos autores citam também que outro visitante floral muito frequente foi *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae).

Assim para a avaliação dos possíveis impactos do algodão GM sobre este grupo funcional foi preparada uma lista preliminar dos potenciais visitantes florais do algodão. Esta lista foi elaborada com base nos polinizadores de algodão registrados em diferentes regiões do mundo (McGregor, 1996) e os visitantes de flores de Malvaceae no Brasil (Silveira, comunicação pessoal) e em um levantamento preliminar de abelhas e lepidópteros realizado na região do Distrito Federal. Na elaboração desta lista foi enfatizado o grupo das abelhas, polinizadores potenciais do algodão, e insetos que se alimentam de pólen. As seguintes abelhas foram listadas: *Apis mellifera* (abelha africanizada), *Bombus* spp. (mamangaba), *Centris* sp. (abelha nativa), *Eufriesea* sp. (abelha nativa), *Melissoptila* sp. (abelha nativa), *Oxaea flavescens* (abelha nativa), *Paratrigona* spp. (jataí-da-terra), *Trigona spinipes* (arapuá ou irapuá) e *Melissodes* spp. (abelha nativa), sendo que com exceção de *Melissodes* spp., todas as demais espécies foram coletadas em algodão no DF.

Em uma primeira avaliação, foram utilizados os seguintes critérios básicos para classificar as espécies:

- *ocorrência no agroecossistema*: ocorre na área de cultura, margens e/ou áreas de vegetação natural.
- *abundância nos campos de algodão e ambientes do entorno*: alta, média ou baixa.
- *associação com a cultura*: depende, não depende ou obrigatoriamente alimenta-se somente no algodão.
- *significância como polinizador em algodão, em outras culturas e em áreas naturais*: sim, provável, improvável ou não tem significância.

Nos casos da falta de informações, para que continuássemos a considerar o potencial das espécies de serem afetadas pelo algodão Bt, trabalhamos com a abordagem do “pior cenário possível”, como sugerido no Protocolo de Cartagena.

De acordo com esses critérios, dois grupos de abelhas atingiram a classificação mais alta: *Apis mellifera* e *Bombus* spp. Estes dois grupos ocorrem em todas as regiões de produção de algodão, são muito abundantes, têm alguma dependência da cultura e tem significância como polinizadores. As espécies *Centris* sp., *Eufriesea* sp., *Oxaea flavescens*, *Paratrigona* spp. e *Trigona spinipes*, potencialmente polinizadores importantes nesta cultura, receberam a classificação mais baixa, principalmente por que estas espécies são de ocorrência restrita, pouco abundantes, ou têm pouca associação com a cultura, ou não tem significância como polinizadores em algodão.

Paratrigona spp., uma espécie de abelha sem ferrão, foi muito abundante nas amostragens que foram conduzidas até o momento em algodão na região de Brasília. Se estes dados se confirmarem em amostragens nas diferentes regiões produtoras de algodão, esta espécie potencialmente atingirá a classificação mais elevada, similar a *Apis mellifera* e *Bombus* spp. As espécies *Melissodes* spp. e *Melissoptila* sp. foram classificadas em um nível intermediário principalmente devido a duas razões: ou por não ocorrerem em todas as regiões de produção de algodão e serem pouco abundantes, ou por que são espécies que foram relatadas como visitantes de plantas da mesma família do algodão mas não foram até o momento observadas em áreas de algodão no Brasil (p.ex. *Melissodes* spp.). Entre as abelhas solitárias constantes na lista inicial, o gênero *Melissoptila* é citado como especialista em flores de Malvaceae (*Sida* spp.) (Silveira, dados não publicados), representando assim outra espécie potencial para as avaliações de biossegurança.

Dentre uma vasta lista de espécies predadoras e herbívoros não-alvo que potencialmente poderiam estar expostos às toxinas devido ao hábito de se alimentarem alternativamente de pólen, foram selecionadas os seguintes grupos:

- Coccinelidae (joaninhas): *Cycloneda sanguinea*, *Hippodamia* spp., *Coleomegilla maculata*, *Scymnus* spp., *Eriopsis* spp. Dermaptera (tesourinhas),
- Chrysopidae (bicho-lixeiro): *Chrysoperla* spp., *Ceraeochrysa* spp., *Chrysopods* spp.
- Phytoseiidae (ácaros).

Utilizando os mesmos critérios aplicados para o grupo das abelhas, dois grupos receberam a classificação mais alta: joaninhas e tesourinhas. É importante ressaltar que a distribuição geográfica das diferentes espécies de predadores pertencentes a esses dois grupos é diferente entre as três grandes regiões produtoras de algodão no Brasil. Contudo, o grupo das joaninhas foi considerado como um predador importante nas três áreas de produção mesmo que ocorram diferenças nas abundâncias das espécies pertencentes a esta família nas diferentes áreas.

Avaliação do risco de exposição

As espécies que atingiram a classificação mais alta foram submetidas à avaliação do risco de exposição à toxina Bt, respondendo as seguintes perguntas:

- *A relação inseto-planta pode levar à exposição?*
- *A exposição através da planta é possível?*
- *Modificações nas características da planta podem levar ao aumento ou redução da exposição ?*

Ambas as espécies *Apis mellifera* e *Bombus* spp. visitam as flores a procura de néctar e pólen e podem ser consideradas generalistas em termo de preferência por fontes de alimento. Esses dois grupos têm sido observados regularmente se alimentando em plantas de algodão. Ambas as espécies levam alimento (pólen e néctar) para as colônias, assim tanto os adultos quanto os imaturos estão potencialmente expostos à toxina Bt. Também foi considerado que devido ao comportamento de forrageamento das abelhas, qualquer troca no metabolismo da planta que possivelmente possa afetar sua atratividade para esse grupo, conseqüentemente vai alterar as possibilidades de exposição às toxinas.

Um grande número de predadores que são observados em áreas de algodão pode alternativamente se alimentar com pólen na fase adulta e em algumas espécies, na fase imatura também. Assim, se confirmado a expressão da toxina Bt no pólen, a probabilidade de exposição direta às toxinas existe e deve ser considerada.

Protocolos para avaliação de risco

a. Polinizadores

Para avaliar os riscos potenciais no grupo de polinizadores selecionados, foi sugerida uma abordagem seqüencial de estudos que inclui diferentes níveis de complexidade, em nível dos indivíduos e da colônia.

- *Nível individual*: Medidas da mortalidade e desenvolvimento de larvas alimentadas artificialmente com pólen Bt.
- *Nível da colônia*: Medidas da mortalidade e desenvolvimento de larvas e taxa de postura da rainha em casa telada. Avaliação da atratividade e eficiência da polinização em casa telada.
- *Nível da comunidade*: Avaliação da biodiversidade de polinizadores em campos de algodão Bt e variedade isogênica.
 - o Medida da efetividade da polinização diretamente através de observações visuais ou indiretamente através de indicadores apropriados, tais como número de frutos, tamanho das maçãs, etc.

b. Insetos que se alimentam de pólen (predadores) : Ver os protocolos propostos pelo grupo de trabalho que discutiu especificamente grupo de predadores.

2. Espécies de Importância Cultural e Conservacionista

A lista brasileira de espécies animais ameaçadas de extinção, disponível no endereço

<http://www.mma.gov.br/port/sbf/fauna/index.cfm>, inclui vários grupos de insetos, entre os quais, abelhas e borboletas que seriam potencialmente expostos ao pólen Bt. Avaliando-se esta lista verificou-se que:

- não podemos indicar, para o Brasil, uma espécie de inseto de significância cultural que tivesse uma abrangência nacional,
- nenhuma das espécies de abelhas ameaçadas de extinção ocorre nas áreas produtoras de algodão e, por esta razão, não foram incluídas nas análises,
- nenhuma das 38 espécies de borboletas registradas em um levantamento preliminar realizado em algodão na região do Distrito Federal está incluída na lista oficial de espécies ameaçadas,
- algumas poucas espécies de borboletas ameaçadas de extinção ocorrem nos estados produtores de algodão.

Porém são necessárias informações sobre o hábitat, plantas hospedeiras e época de atividade dos adultos destas espécies para que o possível risco possa ser avaliado.

Pragas não-alvo

Gaetan S.J. Dubois, Edison Sujii, Pierre Silvie, Marcos G. Fernandez, Raul P. Almeida, Gabor Loevei, Mamoudou Setamou

A avaliação inicial de 38 insetos e ácaros pragas do algodoeiro (Tabela 1), alguns formando complexos de espécies, determinou aqueles que quando expostos à toxina Bt do algodão GM podem sofrer impactos diretos ou indiretos na sua dinâmica populacional apresentando diferentes níveis de importância potencial nas questões ligadas a biossegurança e manejo de pragas na cultura. A importância de cada uma das espécies foi determinada através de avaliação individual baseada nos critérios acima mencionados e comparados em uma matriz de escores para classificação.

As espécies alvo da tecnologia foram identificadas entre as larvas de Lepidópteros susceptíveis à toxina Bt. Nesse grupo estão a lagarta curuquerê (*Alabama argilaceae*), lagarta da maçã (*Heliothis virescens*) e a lagarta rosada (*Pectinophora gossypiella*).

As espécies praga não alvo da tecnologia, selecionadas como as mais importantes, foram os pulgões (*Aphis gossipy*), lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*) e o bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*). Essa escolha foi baseada no entendimento de sua equivalência em termos de importância caso alguma delas tenha sua dinâmica populacional e abundância alterada em função do plantio de algodão Bt. Além disso foi considerado que cada uma dessas espécies possui um guilda alimentar diferente e conseqüentemente necessita de um conjunto de experimentos próprios para avaliar o risco ecológico relacionado com a liberação comercial do algodão Bt em larga escala.

Protocolos para avaliação de risco

Estudos para determinar o grau de exposição do inseto à toxina Bt.

Objetivo: Detectar a toxina presente na planta e no corpo do inseto ou em suas secreções (e.g. "honeydew" e fezes) quando criado em algodão Bt.

Condições Experimentais para criação das espécies selecionadas nas plantas abaixo

- Tratamento: Evento elite ou variedade transformada para uso na região Controle; Linhagem parental isogênica ou variedade parental não transformada
- Coleta de material: Insetos, "honeydew" e tecidos ou seiva da planta durante pelo menos três diferentes fases fenológicas da planta
- Variáveis avaliadas: Detecção de proteínas através de Western Blot revelado com anti-proteínas específicas ou Elisa padrão.

Estudos comparativos do ciclo de vida das espécies selecionadas em algodão Bt e não-Bt.

Objetivo: Estabelecer em laboratório e campo o efeito da toxina na bionomia e comportamento do inseto quando exposto ao algodão-Bt.

Condições Experimentais para estudos de biologia e preferência para oviposição

- Tratamento: Evento elite ou variedade transformada para uso na região- Controle; Linhagem parental isogênica ou variedade parental não transformada. Repetir por no mínimo 2 gerações nas 3 regiões de cultivo do algodão
- Variáveis avaliadas: Desenvolvimento e mortalidade das larvas; Fecundidade e longevidade das fêmeas; Preferência de fêmeas por plantas para oviposição (sem escolha e com escolha).

Levantamento de populações e estudos de abundância relativa em campos de algodão.

Objetivo: Estabelecer a abundância e flutuação populacional das espécies praga selecionadas em condições de campo.

Condições Experimentais para comparação da flutuação populacional no campo

- Tratamento: Algodão Bt tratado com inseticidas químicos contra pragas não alvo- Controle 1; Linhagem parental isogênica ou variedade parental não transformada tratada com inseticidas químicos seguindo recomendação regional
 - Controle 2: Linhagem parental isogênica ou variedade parental não transformada tratada com inseticidas biológicos e outras práticas agroecológicas visando minimizar o impacto sobre inimigos naturais
- Parcelas com 0,5 hectares com 5 m de borda e separadas em 1 km entre si
Repetir por no mínimo duas gerações nas três regiões de cultivo do algodão
- Variáveis avaliadas: Densidade de insetos por estágio de desenvolvimento

Outras Recomendações

O desenvolvimento da cultura do algodão no Brasil permitiu um acúmulo substancial de informações sobre a entomofauna associada à cultura do algodão. Essas informações não estão organizadas de forma sistemática e existem diferenças na forma como essa informação foi coletada. Considerando o potencial de utilização dessas informações nas avaliações de impacto ambiental de algodão Bt, servindo como linha de base para comparações futuras, foi recomendada a proposição de um projeto para coletar, sistematizar e disponibilizar as informações existentes no assunto.

Os testes e levantamentos propostos devem seguir metodologias comuns e uniformes que permitam comparações entre regiões e entre diferentes períodos. No entanto, a realização desses testes deve considerar padrões regionais como clima, fisionomias ambientais e sistemas de produção locais para que as avaliações tenham valor na avaliação de impactos locais.

As plantas usadas nos experimentos de laboratório devem ser desenvolvidas em condições ótimas e de estresses visando avaliar o efeito de fatores ambientais na expressão da toxina, possível fator de variação que deve ser controlado nos experimentos.

As análises dos resultados e a modelagem dos possíveis impactos do algodão Bt sobre pragas não alvo devem considerar interações entre herbívoros devido ao hábito alimentar.

Finalmente, o grupo considerou ser possível prever o comportamento de populações de pragas não-alvo em algodão Bt a partir dos estudos propostos. O impacto do algodão Bt sobre as espécies herbívoras pode ser previsto a partir de estudos com algumas destas espécies.

Tabela 1. Principais pragas do algodoeiro avaliadas quanto à importância para avaliação do impacto ambiental de algodão Bt.

Guilda alimentar	Nome científico	Nome comum
Raspador/sugador	<i>Thrips tabaci</i>	Tripes
	<i>Frankliniella schultzei</i>	Tripes
	<i>Caliothrips brasiliensis</i>	Tripes
	<i>Tetranychus urticae</i>	Ácaro rajado
	<i>Tetranychus ludeni</i>	Ácaro vermelho
	<i>Polyphagotarsonemus latus</i>	Ácaro branco
Mastigador/plântula	<i>Agrotis</i> sp.	Lagarta rosca
	<i>Peridroma</i> spp.	Lagarta do colmo
Desfolhador	<i>Alabama argillacea</i>	Curuquerê do algodoeiro
	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Lagarta do cartucho
	<i>Trichoplusia ni</i>	Lagarta falsa medeadeira
	<i>Cosmophila erosa</i>	Lagarta falsa medeadeira
	<i>Pseudoplusia includens</i>	Lagarta mede palmo
	<i>Costalimaita ferruginea vulgata</i>	Vaquinha
	<i>Typophorus nigrinus</i>	Vaquinha
Desfolhador/polinívoro	<i>Diabrotica speciosa</i>	Vaquinha
Brocador	<i>Eutinobothrus brasiliensis</i>	Broca da raiz
	<i>Chalcodermus niger</i>	Broca do caule
Sugador/raiz	<i>Scaptocoris castanea</i>	Percevejo castanho
	<i>Atarsocoris brachariae</i>	Percevejo castanho
Sugador	<i>Horciasoides nobilellus</i>	Percevejo rajado
	<i>Lygus lineolaris</i>	Percevejo
	<i>Nezara viridula</i>	Percevejo da soja
	<i>Aphis gossypii</i>	Pulgão
	<i>Bemisia tabaci</i>	Mosca branca
	<i>Gargaphia torresi</i>	Percevejo manchador
	<i>Agallia albidula</i>	Cigarrinha
	<i>Sonesimia grossa</i>	Cigarrinha
	<i>Xenophloeae</i> spp.	Cigarrinha
	<i>Dysdercus</i> sp.	Percevejo manchador
Mastigador/botões	<i>Anthonomus grandis</i>	Bicudo
Mastigador/maçãs	<i>Heliothis virescens</i>	Lagarta das maçãs
	<i>Heliothis zea</i>	Lagarta das maçãs
	<i>Pectinophora gossypiella</i>	Lagarta rosada

Predadores

Marcos Faria, Eliana M. G. Fontes, Francisco Schmidt, Jonathan Lundgren, Nguyen van Tuat, Odair A. Fernandes

A partir de mais de 30 espécies conhecidas de predadores que ocorrem em algodão cultivado nas diferentes regiões do Brasil, os seguintes grupos de insetos foram considerados relevantes nos estudos que visam avaliar o impacto do algodão Bt sobre os predadores: aranhas, percevejos predadores (*Geocoris*, *Orius* e *Nabis*), pentatomídeos, crisopídeos, coccinelídeos, formigas, tesourinhas (*Doru* sp. e *Euborellia* sp.), ácaros predadores, além de espécies não-identificadas de aranha (licosídeo) e coleópteros (um estafilínido e um carabídeo).

Considerando-se as diferenças regionais no tocante aos predadores, estes foram ranqueados conforme a região, baseado no relato de entomologistas das regiões Nordeste, Centro-Oeste e Meridional. Ao final, os crisopídeos e coccinelídeos foram classificados como "rank 1". Diferenças regionais indicam a necessidade de que, dentro de cada grupo selecionado, as espécies mais representativas de cada região sejam escolhidas como espécies indicadoras potenciais. Este procedimento pode ter omitido importantes predadores em lavouras de algodão, devendo ser reavaliado tão logo novas informações relacionadas à distribuição espacial de espécies, abundância e função ecológica sejam disponibilizadas. Por exemplo, tesourinhas, aranhas, percevejos predadores e formigas (*Solenopsis* sp.) foram classificadas como "rank 2". Estas espécies poderão no futuro ser incluídas como "rank 1" desde que informações que atestem este status sejam disponibilizadas.

As espécies não-identificadas de aranha, estafilínido e carabídeo foram selecionadas em função de estudo conduzido pela Embrapa em uma lavoura da região Centro-Oeste, onde foram as espécies mais abundantes coletadas em armadilhas de solo do tipo Pitfall. Serão conduzidos estudos realizados em diferentes localidades a fim de confirmar a abundância generalizada destas espécies em plantios de algodão.

Protocolos para avaliação do risco de algodão Bt sobre crisopídeos e coccinelídeos

Toxicidade da proteína purificada sobre crisopídeos

Um dos aspectos mais importantes nos estudos de biossegurança é a avaliação do efeito da proteína purificada sobre as espécies selecionadas como indicadoras.

Em laboratório, serão determinados os efeitos letais e subletais, da proteína purificada ou da proteína truncada, sobre crisopídeos e coccinelídeos. Dietas artificiais específicas para os diferentes estágios dos insetos deverão ser empregadas para a criação e realização dos bioensaios, desde que não afetem a estabilidade da(s) toxina(s) sob investigação. Inicialmente, a CL₅₀ da(s) toxina(s) Bt deverá ser estimada. É importante que a toxina purificada seja equivalente à toxina expressa no algodão transgênico em termos de estrutura, especificidade, estabilidade e eficiência. Inúmeros parâmetros poderão ser empregados para a avaliação dos efeitos subletais, tais como:

- Fecundidade (quantidade de ovos depositados);
- Tamanho/peso de adultos dos sexos masculino e feminino;
- Tempo de vida dos insetos;
- Motilidade (velocidade de deslocamento, tempo requerido para "desvirar-se", capacidade de vôo);
- Taxa de oviposição e viabilidade dos ovos;
- Eficiência de predação em laboratório.

Análises bi-tróficas (predadores vs. algodão Bt)

Através destas análises espera-se maior conhecimento acerca do efeito da planta transgênica sobre a biologia dos predadores selecionados. Testes com os estágios adulto e larval dos insetos indicadores deverão ser conduzidos com o algodão Bt, visando responder perguntas específicas.

A - Expressão de toxinas: Onde e qual o nível de expressão de toxinas Bt nas plantas de algodão, sobretudo nos tecidos e produtos vegetais onde os predadores podem eventualmente alimentar-se, tais como nervuras foliares, floema, pólen, néctar e fluidos?

Os tecidos e produtos do algodão transgênico deverão ser submetidos a testes específicos com o objetivo de determinar a concentração de toxina(s) Bt nos mesmos. Estes testes deverão ser realizados para os diversos estágios de desenvolvimento do algodoeiro, cultivado sob condições representativas das regiões produtoras.

B - Toxicidade: Ensaio será realizado com a alimentação de crisopídeos e coccinelídeos, tanto para larvas quanto para adultos, em tecidos vegetais ou exudados de plantas de algodão Bt que são eventualmente empregados por estes insetos como fonte alimentar. Testes para determinação do teor da(s) toxina(s) Bt no inseto mantido em algodão Bt serão conduzidos.

Larvas e adultos deverão ser mantidos em algodão Bt, empregando-se as partes vegetais anteriormente mencionadas, desde que sejam nutricionalmente indicadas para este propósito. A CL₅₀ deverá ser estimada para cada parte vegetal onde estes insetos podem alimentar-se. Os parâmetros mencionados no item "Toxicidade da proteína" poderão ser avaliados. Os testes deverão ser conduzidos ao longo de todo o período larval e, pelo menos, durante duas semanas para os indivíduos adultos.

C - Preferência: Os predadores podem distinguir entre tecidos vegetais transgênicos e não-transgênicos? Tecidos vegetais de plantas transgênicas ou plantas não-transgênicas isogênicas serão oferecidos aos insetos, e o número de visitas a cada fonte alimentar durante determinado período de tempo será medido. Dependendo do tecido vegetal, medir-se-á ainda a taxa de consumo ou o tempo gasto na alimentação.

D- Exposição: Qual a quantidade de tecidos vegetais que os predadores de fato consomem sob condições de campo?

Larvas de predadores poderão ser confinadas em estruturas vegetais produtoras de néctar, tanto de plantas transgênicas quanto de não-transgênicas, e posteriormente submetidas a testes específicos para avaliação da quantidade consumida. Os testes deverão ser realizados sem e com a presença de presas, preferencialmente ovos de lepidópteros normalmente empregados na dieta desses predadores, uma vez que o consumo de estruturas vegetais pode ser influenciado pela disponibilidade de presas.

Análises multi-tróficas

Os estudos de biossegurança com as espécies indicadoras de predadores deverão considerar relações complexas envolvendo, além destes insetos, suas presas e a planta transgênica. Como adultos de crisopídeos não são predadores, os ensaios discutidos a seguir deverão ser conduzidos com larvas de crisopídeos e adultos e larvas de coccinelídeos. Os ensaios deverão ser elaborados com a intenção de responder a questionamentos tidos como relevantes.

A - Seleção de presas e expressão da toxina Bt na presa e seus produtos: Neste Workshop o pulgão *Aphis gossypii* e lagartas de 1º estágio de *Spodoptera* sp. (dependendo da espécie de *Spodoptera* que é mais prevalente na região onde pretende-se liberar o algodão Bt) foram mencionadas como sendo presas preferenciais de crisopídeos e coccinelídeos. A toxina Bt encontra-se presente nestas presas ou em seus produtos, como fezes e "honeydew"?

As presas mencionadas deverão ser mantidas em algodão Bt por pelo menos 24 horas e, em seguida, analisadas quanto ao teor de toxinas em seus organismos. Fezes e "honeydew" destes insetos deverão ser submetidas às mesmas quantificações.

B – Toxicidade: Predadores alimentados com presas (ou seus produtos) mantidas em algodão Bt têm seus parâmetros biológicos afetados? A toxina Bt pode ser detectada nos predadores quando estes são alimentados com suas presas preferenciais?

Em laboratório, os predadores deverão ser alimentados com presas (e seus produtos) mantidas em algodão Bt e algodão convencional. A sobrevivência e demais parâmetros biológicos mencionados no item I deverão ser avaliados. Recomenda-se o cálculo da CL₅₀ para predadores alimentados com presas mantidas em algodão Bt.

C - Preferência: Os predadores alimentam-se de fezes e "honeydew" na presença de presas? Os predadores distinguem entre presas que se alimentaram em algodão Bt ou algodão convencional?

Fezes e "honeydew" de insetos alimentados em algodão Bt e em seu isogênico não-transgênico serão oferecidas aos predadores, e o número de visitas em determinado período de tempo a cada fonte alimentar deverá ser registrado. O consumo de fezes poderá ser estimado através da pesagem das fezes produzidas. Para o "honeydew", é possível medir o tempo gasto pelos predadores no procedimento alimentar.

Para os ensaios de preferência, pulgões e lagartas de *Spodoptera* deverão ser mantidos em algodão Bt e seu isogênico não-transgênico. As presas deverão ser marcadas através de metodologia apropriada e a taxa de consumo de presas mantidas em algodão Bt ou convencional estimado em vários intervalos de tempo. É importante que o efeito da marcação na seleção de presas seja previamente avaliado.

D - Exposição: Quantas presas são efetivamente consumidas pelos predadores sob condições de campo?

A quantificação da taxa de predação em condições reais é dificultada por diversos fatores como, por exemplo, aqueles ligados à presa (tamanho, local de alojamento, etc...). A medição da taxa de consumo, estimada através de métodos serológicos, pode ser uma estratégia pertinente em ensaios de campo. Para tanto, é preciso ter a certeza quanto à existência de relação linear entre a quantidade de toxina Bt ingerida e a biomassa de presa no intestino dos predadores.

Estudos de campo

Através dos estudos de campo é possível confirmar se o algodão Bt é realmente seguro aos predadores tidos como indicadores. Os ensaios de campo devem ser realizados ao longo de anos nas diferentes regiões produtoras de algodão Bt. Inúmeros questionamentos, relacionados ao tamanho das áreas experimentais, distância entre parcelas com algodão transgênico e parcelas com algodão convencional, duração do estudo, dentre outras, merecem maior atenção de especialistas.

Ovos, larvas e adultos dos predadores selecionados deverão ser amostrados regularmente em parcelas com algodão transgênico ou convencional. Aspectos como desenho estatístico e metodologia de amostragem apropriados, bem como a precisa identificação dos estágios larvais de predadores, deverão ser considerados.

Parasitóides

Rose Monerat, Francisco Ramalho, Angelo Pallini, Josephine Songa, A. Nicholas E. Birch

Os parasitóides são importantes para a cultura do algodão, pois podem controlar ou auxiliar no controle de pragas tais como o bicudo, a lagarta rosada e o curuquerê. Além disso, aportam outros benefícios como a redução do uso de pesticidas e conseqüentemente a preservação da biodiversidade, diminuição da contaminação ambiental, melhoria da qualidade de vida dos trabalhadores, diminuição dos custos de produção e aumento dos lucros.

Esses insetos interagem diretamente com as plantas quando se alimentam do pólen, néctar e exudados e indiretamente quando parasitam larvas de seus hospedeiros.

O impacto do algodão-Bt poderá ser detectado e dimensionado através da realização de experimentos em laboratório e campo, tais como testes de alimentação, comportamento de acasalamento, comportamento de oviposição, avaliação da taxa de parasitismo, longevidade e fecundidade e dinâmica populacional.

Para isso faz-se necessária a seleção das espécies de parasitóides mais importantes para a cultura. Essa seleção, no workshop, foi realizada baseada na distribuição geográfica do parasitóide em cada região produtora, abundância do parasitóide na cultura do algodão em cada região, significância do parasitóide em controle biológico/manejo integrado de pragas, provável exposição direta ou indireta do parasitóide à toxina Bt.

Os parasitóides presentes na cultura do algodão estão listados na tabela 1. Destes, três foram selecionados para estudo:

- *Trichogramma pretiosum* (Vespinha)
- *Bracon vulgaris* (Vespinha)
- *Catolaccus grandis* (Vespinha)

Protocolos para avaliação de risco

Testes de alimentação

Objetivo: Verificar a presença da toxina Bt nos parasitóides que se alimentam do néctar, pólen e exudados da planta.

Condições experimentais para o estudo

- Tratamento: evento elite ou variedade transformada.
- Controle: Linhagem parental isogênica ou variedade parental não transformada.
- Material: Insetos, néctar, pólen e exudados das plantas coletados em diferentes fases de desenvolvimento das plantas.

Variáveis avaliadas: Detecção de proteínas através de *Western-blot* revelado com anti-corpos ou Elisa; Detecção imuno-citoquímica da toxina no intestino do inseto.

Comportamento de acasalamento

Objetivo: Estabelecer em laboratório e em campo o efeito da toxina Bt no acasalamento dos insetos.

Condições experimentais para o estudo

- Tratamento: evento elite ou variedade transformada.
- Controle: Linhagem parental isogênica ou variedade parental não transformada.
- Número mínimo de repetições: 4 ensaios com 20 repetições.

Variáveis avaliadas: Preferência das fêmeas para o acasalamento com machos das culturas transgênicas ou não transgênicas.

Comportamento de oviposição

Objetivo: Estabelecer em laboratório e em campo o efeito da toxina Bt na oviposição dos parasitóides.

Condições experimentais para o estudo

- Tratamento: evento elite ou variedade transformada.
- Controle: Linhagem parental isogênica ou variedade parental não transformada.
- Número mínimo de repetições: 4 ensaios com 20 repetições.

Variáveis avaliadas: Preferência das fêmeas em ovipositar em insetos provenientes das plantas transgênicas ou não transgênicas.

Taxa de Parasitismo, Longevidade, Fecundidade

Objetivo: Estabelecer em laboratório e em campo o efeito da toxina Bt na taxa de parasitismo, longevidade e fecundidade dos parasitóides.

Condições experimentais para o estudo

- Tratamento: evento elite ou variedade transformada.
- Controle: Linhagem parental isogênica ou variedade parental não transformada.
- Número mínimo de repetições: 4 ensaios com 20 repetições.

Variáveis avaliadas: Porcentagem e taxa de parasitismo, longevidade de fêmeas e machos e fecundidade de parasitóides provenientes de larvas hospedeiras expostas e não expostas à toxina Bt.

Estudo da dinâmica populacional

Objetivo: Estabelecer em laboratório e em campo o efeito da toxina Bt na taxa de parasitismo, longevidade e fecundidade dos parasitóides.

Condições experimentais para o estudo

- Tratamento: evento elite ou variedade transformada.
- Controle: Linhagem parental isogênica ou variedade parental não transformada.
- Número mínimo de repetições: 4 ensaios com 20 repetições.

Variáveis avaliadas: Capacidade reprodutiva e longevidade das fêmeas, razão sexual, taxa de parasitismo e sobrevivência da fase imatura das populações de campo.

Considerações finais

O algodão-Bt pode ter impacto positivo ou negativo sobre a fauna associada aos parasitóides. Esses impactos são difíceis de prever, mas são passíveis de serem medidos. No entanto devem ser estudados em função da região, da estação, dos insetos não-alvo e das pragas secundárias. Esses estudos devem ser realizados atentando-se ainda para as interações múltiplas da planta-hospedeiro-parasitóide.

Tabela 2. Principais parasitóides presentes na cultura do algodão.

Ordem	Família	Gênero/espécie
Hymenoptera	Braconidae	<i>Bracon</i> sp.
	Braconidae	<i>B. mellitor</i> Say
	Braconidae	<i>B. vulgaris</i> Ashmead
	Braconidae	<i>Urosigalphus rubicorpus</i> Gibson
	Pteromalidae	<i>Catolaccus grandis</i> (Burks)
	Pteromalidae	<i>C. hunteri</i> Crawford
	Pteromalidae	<i>Heteropsilus</i> spp.
	Pteromalidae	<i>Protolaccus</i> spp.
	Eupelmidae	<i>Eupelmus</i> spp.
	Eupelmidae	<i>E. cashmeni</i> (Crawford)
	Eurytomidae	<i>Eurytoma</i> spp.
	Ichneumonidae	<i>Campoletis sonorensis</i> Cam.
	Chalcididae	<i>Ceratosmicra immaculate</i>
	Eulophiidae	<i>Euplectrus</i> spp.
	Trichogrammatidae	<i>Trichogramma</i> spp.

Plantas Invasoras

Robinson Pitelli, Francis Muyeko, Ricardo Carmona

Levando em consideração as várias publicações que citam as principais plantas daninhas da cultura do algodão em diferentes regiões do Brasil, a espécie *Sida rhombifolia* foi eleita para estudos mais detalhados, caso necessário. As principais razões para a eleição desta espécie foram: (i) ampla distribuição nas áreas de cotonicultura no Brasil; (ii) trata-se de uma entre as mais importantes plantas daninhas da cultura do algodoeiro no Brasil; (iii) pertence à família Malvaceae; (iv) planta bastante competitiva com culturas anuais; (v) freqüente infestante das culturas normalmente utilizadas em rotação, como o milho e a soja, além das pastagens; (vi) seu banco de sementes tem elevada persistência no solo; (vii) trata-se de importante hospedeira alternativa de uma série de doenças do algodoeiro, especialmente viroses; (viii) apresenta elevada produção de sementes e (ix) é uma espécie de difícil controle, mesmo pelo controle químico.

Os principais estudos considerados pertinentes pelo grupo para esta planta daninha foram:

Fluxo gênico das plantas de algodão para as de *Sida rhombifolia*. Este tipo de protocolo deverá ser desenvolvido pelo grupo técnico de "Fluxo Gênico".

Determinação da assembléia de polinizadores associados à *Sida rhombifolia*. Este tipo de protocolo deverá ser desenvolvido pelo grupo técnico de "Polinizadores".

Caso o fluxo gênico for confirmado, outros testes deverão ser desenvolvidos com o objetivo de avaliar se a ajustabilidade eco-fisiológica da planta (fitness) foi alterada. As principais características que deverão ser estudadas seriam produção e capacidade germinativa de sementes, assembléia de predadores relacionados ao novo biótipo e capacidade competitiva do novo biótipo em relação ao original. Informações do grupo técnico de fluxo gênico indicam que o risco de fluxo gênico entre o algodoeiro e a *Sida rhombifolia* é praticamente nulo e, por este motivo, não se considerou oportuno apresentar qualquer protocolo.

Mudança da composição específica da comunidade infestante em lavouras de algodão Bt

O grupo considerou a mudança de flora de plantas daninhas em lavouras de algodão Bt quando comparadas com lavouras de algodão convencional como o impacto mais provável de ocorrer em decorrência desta nova tecnologia agrícola. Este tipo de conclusão decorre da possibilidade de que haja uma alteração na assembléia de predadores e polinizadores das plantas daninhas, favorecendo algumas populações em detrimento de outras. No entanto, este tipo de alteração apenas é possível de ser observada quando grandes áreas são cultivadas e, por isso, a recomendação é que esta avaliação seja realizada como monitoramento pós-comercialização, mesmo porque este tipo de impacto tem inúmeras possibilidades de mitigação. Este tipo de monitoramento deve durar 4-5 anos para que qualquer tendência seja detectada.

Os principais parâmetros a serem considerados como indicadores de mudanças na comunidade infestantes são: (i) composição específica e densidades populacionais no banco de diásporos do solo; (ii) composição específica e densidades populações das plantas daninhas em dois estágios do ciclo da cultura (florescimento do algodoeiro e colheita) e (iii) composição específica e densidades das principais populações da “chuva de sementes” no final do ciclo do algodoeiro e no período de entressafra.

Tanto para o banco de diásporos como para a “chuva de sementes” as melhores comparações que deverão ser efetuadas serão análises multivariadas com duas variantes: utilizando a densidade relativa das populações e análise binária, considerando a presença e a ausência das populações. Outros índices complementares poderão ser estudados como: índices de diversidade, de equitabilidade e de similaridade.

Para as avaliações pertinentes à plantas daninhas além das análises multivariadas é recomendado que se efetuem estudos fitossociológicos, utilizando a biomassa como parâmetro na determinação da dominância relativa.

Micro e Macrobiota do Solo

Itamar S. Melo, Maria C. V. Inglis, José O. Siqueira, Ron Wheatley, Beatrice Anyango, Leda C. Mendonça, Pham Van Toan, Warton Monteiro

Devido à complexidade do ecossistema solo, não seria prático estudar esse sistema baseado em uma dada espécie em particular. Para estudar o sistema baseado em propriedades funcionais, seria igualmente inviável estudar todas as propriedades, dado o grande número delas. Assim, deve ser feita a escolha de grupos funcionais relevantes à cultura do algodão na situação em estudo.

No Workshop no Brasil foram selecionados e priorizados, de 1 a 3, os grupos funcionais, com base na sua importância. Assim foi possível montar uma matriz de seleção das principais funções, considerando-se sua importância com relação ao evento genético, à cultura, às espécies selvagens, às condições culturais, dentre outros. Os principais tópicos definidos encontram-se na Tabela 3.

Como a grande maioria das atividades biológicas no sistema solo-planta ocorre na rizosfera, é possível que a toxicidade das proteínas Bt, secretadas das raízes, tenham um efeito direto em toda dinâmica biótica associada com a planta. Por exemplo, a planta transformada apresenta a toxina expressa, ativa, diferentemente da pró-toxina produzida pela bactéria, que só se transforma em toxina no interior dos insetos sensíveis. Por este motivo, os efeitos sobre o comportamento da macrofauna neste microhabitat (planta GM vs. solo) são os que devem ser enfatizados.

Do mesmo modo, os resíduos da planta Bt também contém toxina ativa que poderá afetar os organismos decompositores, que por sua vez, exercem papel preponderante na ciclagem de nutrientes. Assim, esses grupos funcionais, microbianos, podem ser adversamente, afetados pela toxina.

No solo, mais precisamente na rizosfera, as populações microbianas e suas funções poderão ser influenciadas pela cultura, espécie, idade da planta, tipo de solo, entre outros fatores. Desta forma os estudos dessas comunidades detectam e examinam questões relativas à sua composição, estrutura e estabilidade e sobre a atividade e função de seus membros. Mudanças na estrutura da comunidade microbiana podem ser avaliadas por meio da análise do DNA de toda a população (denominada *fingerprinting*), através do uso de eletroforese em gel com gradiente de desnaturantes (DGGE) e eletroforese em gel com gradiente de temperatura (TGGE), ou ainda de fragmentos amplificados por PCR usando *primers* específicos para RNA-ribossomal-16S. Em condições não-desnaturantes, o DNA em fita simples possui uma estrutura dobrada que é determinada pela sua seqüência nucleotídica. Mudanças na seqüência como, por exemplo, a substituição simples de nucleotídeos, podem alterar essa estrutura e, dessa forma alteram a mobilidade eletroforética que será medida nesta análise.

Protocolos Desenvolvidos para teste de pré-liberação de plantas GM: efeitos potenciais.

Duas das funções priorizadas na categoria 1, a toxina Bt ativa e as interações planta-microbiota, são usadas para desenvolver protocolos específicos visando a pré-liberação de algodão Bt. no sentido de fornecer evidências científicas de que qualquer efeito potencial possa ou não ocorrer.

Protocolos visando determinar a concentração e a persistência da proteína Bt no solo

Principais Fontes:

1. Resíduos de planta *Bt* X Isolinhas não *Bt*:
 - a) Usar as mesmas isolinhas homólogas;
 - b) Concentração das proteínas.
2. Suplementação de resíduos vegetais ao solo:
 - a) Taxas de suplementação baseada em valores de campo;
 - b) Aplicações a todos os tipos de solos representativos das três principais regiões produtoras do Brasil;
 - c) Padronizar experimentalmente as condições de ambiente.
3. Avaliação:
 - a) Concentração de proteínas;
 - i – Teste ELISA
 - ii – Eletroforese capilar
 - iii – Bioensaios
 - b) Amostrar/avaliar em diferentes períodos;
 - c) Análise de cinética de crescimento de microrganismos ou produção enzimática.

Protocolos Experimentais para Avaliação dos efeitos do Algodão Bt no ecossistema solo

Os protocolos experimentais foram delineados para fornecerem evidências científicas das magnitudes e duração de quaisquer efeitos da toxina Bt sobre o ecossistema solo. Esses ensaios determinarão, em última análise, o comportamento, taxas de aquisição, concentração, persistência e os impactos da toxina-*Bt* no solo.

Delineamento Experimental e Protocolos

- Solos: Amostras de solos representativos das três principais regiões do Brasil – Centro-Oeste (3), Nordeste (1) e Sudeste (2) perfazendo um total de 6 tipos de solos.
- Enriquecimento: Determinar as quantidades de resíduos que entram no sistema, nos locais onde os solos são coletados. Adicionar, então, resíduos da toxina – Bt e resíduos de plantas não – Bt. Tendo-se, assim, os seguintes tratamentos:
 - 0 X a taxa de campo;
 - 0,5 X taxa de campo;
 - 1 X taxa de campo;
 - 2 X taxa de campo;
 - 3 X taxa de campo.
- Aplicações de resíduos (na superfície do solo e misturado ao solo):
- Delineamento experimental – considerando-se as condições padrão de incubação dos solos: umidade, temperatura, quantidade de solo: 5 a 10 Kg de peso em um lisímetro.

Determinação da Macrofauna

Os efeitos da proteína Bt, assim classificada através da matriz sobre a macrofauna, serão avaliados, sendo priorizados os estudos dos efeitos sobre minhocas. Os ensaios devem envolver minhocas e solos coletados em campos não cultivados com plantas transgênicas e solos sob cultivo de algodão-Bt. Minhocas serão incubadas em amostras de solo adicionadas de toxina-Bt ou resíduos de plantas, tanto no laboratório como em campo. A avaliação se baseará em mortalidade e peso individual das minhocas, a cada 40 dias. Variações do método devem ser contempladas para avaliar os efeitos sobre larvas e adultos da macrofauna.

Tabela 3 – Escala de Prioridades Sobre as Funções do Solo: Principais Parâmetros

Tópicos	Características	Prioridade	Nível de Conhecimento
Proteína	Toxicidade	1	1
Resíduos	Toxina (partes da planta)	3	1
Ciclos Bio-geoquímicos	Carbono; Nitrogênio; Microorganismos	2	1
	Macroorganismos; Nematóides, minhocas	3	3
Transferência de Genes	Plantas, Microorganismos	1	2
Interações Planta-Microorganismos	Microbiota da rizosfera	1	2
Propriedades do Solo	Agregação	2	1

Tabela 4. Matriz de Efeitos

Fonte	Item de processo	Processos	Efeitos
Resíduos da Planta Bt	Proteína do Solo	Absorção	Taxa de desaparecimento
Exsudatos	Decomposição	Desnaturação	Persistência
Pólen	Ingestão pela Fauna	Degradação	Bioatividade
Transferência de DNA	Ingestão	Absorção pela Planta	Acumulação
Interações planta - micro/macrobiota	Transferência	Eliminação, Lixiviação, Escorrimento Superficial	

Tabela 5. Priorização dos Principais Grupos da Macrofauna

Grupos Funcionais	Taxas	Funções	Sub-prioridade	Prioridade
Decompositores	Trips, Ácaros, Besouros, Formigas, Centopéias	trituradores de Matéria Orgânica	???	1
Aqueles que se alimentam de raízes	Nematóides (patógenos), Protozoários, Formas Larvais	Fitopatógenos, Ciclagem de Nutrientes	???	3
Disseminadores	----	Minhocas	1	1
	-----	Soil "burrows", Insetos	2	2
	----	Formigas	2	----
	----	Besouros (Muitos com multifunções)	2	---

Determinações microbianas.

1-) Ensaio de proteína:

- a) Teste ELISA
- b) Bioensaios, utilizando-se espécies indicadoras, como por exemplo, *Manduca sexta*, *Diabrotica undecimpunctata* (dependendo do evento).

2-) Outros ensaios: " Efeitos da proteína Bt sobre os processos biológicos:

- a) Biomassa – respiração basal
- b) Biodiversidade
 - DGGE, TGGE – seleção da população: de fungos, bactérias, leveduras, actinomicetos;
 - RFL – descrição de população
 - PCR – uso de "primers" específicos;
 - Ensaios enzimáticos, como, por exemplo, fosfatase, hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), nitrogenase, etc;
 - Etapas de nitrificação.

Tópicos	Características	Prioridade	Nível de Conhecimento
Proteína	Toxicidade, Efeitos	1	1
	Persistência e acumulação/degradação	1	2
	Relativa atividade das muitas diferentes proteínas	1	1
	Aspectos ambientais	1	3
Resíduos	Partes da planta (toxina)		
	Compostos da planta	3	1
	Estrutura de solo	2	1
	Relação C:N	2	1
	Conteúdo de lignina	3	3
	Taxa de declínio – persistência	1	2
Ciclagem Biogeoquímica	Carbono e Nitrogênio = microrganismos, macrofauna, nematóides, minhocas etc	2	1
	Carbono: decomposição; degradadoras primárias; microrganismos/macrofauna	1	1
	Nitrogênio: taxa de nitrificação	1	1
	Potássio	2	1
	Fósforo	2	1
	Micronutrientes	3	1
Transferência Gênica	Biomassa total de solo; abundância e diversidade; espécies e funções	1	2
	Plantas, microrganismos	3	3
	Definir construção específica do evento	1	1
Interações Planta/ Microg./ Macrofauna	Determinações "Baseline"	3	3
		1	2
	Micorrizas arbusculares	1	1
	Patógenos	3	1
Propriedades do Solo	Populações associadas à rizosfera	1	3
	Agregação	2	1
	Biodiversidade, Biodinâmica	1	3
	Propriedades físico – química	1	3
	Saúde do solo; erosão	1	2
	Biomassa do solo	1	1

Sessão IV - Fluxo gênico e suas conseqüências

Francisco Aragão, Jill Johnston, Ana Ciampi, Carol Mallory-Smith, Curt Brubaker, Flavio Gândara, Luiz P. Carvalho, Milton Geraldo Fuzzato, Paulo A. V. Barroso, Paulo Kageyama, Vânia M. Cirino, Vu Duc Quang

O desenvolvimento de algodão geneticamente modificado contendo genes *cry*, de *Bacillus thuringiensis*, (algodão Bt) representa um passo significativo para essa cultura, reduzindo os riscos ambientais e para a saúde humana associados uso de pesticidas, mas deve ser realizado sem risco para a diversidade nativa existente no gênero *Gossypium*. O propósito deste relatório é identificar e avaliar riscos ambientais potenciais à flora brasileira nativa decorrentes do cultivo de algodão Bt no Brasil. Este grupo se concentrou em avaliar o impacto ambiental resultante do cultivo comercial de algodão Bt no caso dos genes introduzidos nesta planta por engenharia genética serem transferidos para espécies silvestres do gênero *Gossypium*, variedades tradicionais, algodoeiros ruderais ou plantas voluntárias.

Em primeiro lugar, a introgressão do gene de *B. thuringiensis* em algodoeiros não-transgênicos poderia exacerbar a ameaça à integridade genética da diversidade existente no Brasil do gênero *Gossypium* (variedades tradicionais de algodão e *G. mustelinum*, espécie silvestre endêmica). Os algodoeiros tradicionais e de "fundo de quintal" são componentes críticos para o cultivo de algodão com baixo uso de tecnologias modernas e são recursos importantes para o melhoramento genético, no desenvolvimento de variedades locais adaptadas. A integridade genética destas linhagens já se encontra em risco devido ao fluxo de gene de cultivares-elite de algodão. Assim buscou-se verificar se a introdução de variedades com o gene de Bt aumentaria este risco. *G. mustelinum* é um algodão silvestre, endêmico do Brasil, e em risco de extinção. Em segundo lugar, a introgressão do gene de Bt para os cultivos orgânicos e não-transgênicos também poderia ter conseqüências econômicas. Embora as fibras das plantas receptoras do gene sejam não-transgênicas, pois são originadas de tecido materno, percepções de mercado podem ser insensíveis a questões puramente científicas. Um fator importante é que as sementes plantadas no ano seguinte irão ter o gene de Bt. Estas preocupações são particularmente críticas para a indústria de algodão orgânico, onde muitas vezes se utiliza como semente os grãos do cultivo anterior. Finalmente, há a preocupação de que o gene Bt poderia dar uma vantagem seletiva às populações de receptoras do gene, fazendo com que plantas voluntárias aumentem a habilidade de colonização, suplantando outras populações, como as ruderais e mais crítico, as populações de *G. mustelinum*. Conseqüentemente, é crítico que consideremos:

1. Se o gene de Bt pode ser introgridido em outras espécies.
2. Se o gene de Bt pode trazer uma vantagem seletiva suficiente a estas plantas, de tal maneira que aumente sua capacidade de colonização.

Fatores que Afetam a Probabilidade de Fluxo Gênico

Taxonomia de Gossypium

O gênero *Gossypium* inclui aproximadamente 44 espécies diplóides ($2n = 26$) e 5 alotetraplóides ($2n = 52$) (Fryxell, 1992) que estão concentradas nas regiões tropicais e subtropicais. Há três centros primários de diversidade para as espécies diplóides de *Gossypium*, Austrália, Nordeste da África e Sul e Centro Oeste do México (Tabela 6). Esta distribuição global foi acompanhada por uma diversificação na morfologia, ecologia e variação no número de cromossomos. Como resultado, as espécies diplóides de *Gossypium* podem se agrupar em oito grupos morfológicos e citologicamente distintos. Este agrupamento é feito baseado em semelhanças na estrutura e tamanho dos cromossomos, designando os genótipos de A, B, C, D, E, F, G e K (Tabela 6) (Beasley, 1940, 1942; Edwards & Mirza, 1979; Endrizzi et al., 1985; Phillips & Strickland, 1966; Stewart, 1995; Hasenkampf & Menzel 1980; Hutchinson 1951; Hutchinson et al. 1947).

A homologia cromossômica entre os genótipos é relativamente alta. Isto se reflete no fato de que há pareamento cromossômico normal durante a meiose e alta taxa de fertilidade observada em híbridos intragênicos. Por outro lado, cruzamentos intergênicos são difíceis impossíveis de serem realizados e, quando é possível, a geração F_1 é caracterizada por anormalidades meióticas e esterilidade.

Várias décadas de estudos mostraram que as espécies tetraplóides de *Gossypium* são alotetraplóides, resultado da combinação do genoma A (do Velho Mundo) com o genoma D (do Novo Mundo) (Wendel, 1989; revisado por Endrizzi et al., 1985). Isto evidencia que os dois genomas devem ter ficado fisicamente próximos. Porém, os parentais dos dois grupos genômicos ainda são encontrados como espécies diplóides com distribuição geográfica nos dois hemisférios. Dados moleculares indicam que todos os alopoliplóides de *Gossypium* compartilham um ancestral comum (Brubaker et al., 1999). Os alopoliplóides possuem um genoma cloroplasmático A, indicando que o evento de hibridação inicial ocorreu em espécies africanas ou asiáticas (Wendel, 1989). Após a geração inicial de alopoliplóides, houve uma radiação evolutiva três linhagens. O *G. mustelinum*, o único descendente de uma ramificação dessa radiação, ocorre apenas em uma pequena região do nordeste do Brasil (Wendel et al., 1994). Duas das outras linhagens são representadas por duas espécies cultivadas (*G. barbadense* e *G. hirsutum*), enquanto uma outra é ocorre de forma endêmica, em ilhas, em decorrência de dispersões de longa distância: *G. barbadense* com *G. darwinii* (Ilha Galápagos) (Percy & Wendel, 1990) e *G. hirsutum* com *G. tomentosum* (Ilhas havaianas) (DeJoode & Wendel, 1992).

As espécies alotetraplóides de *Gossypium* que ocorrem no Brasil, *G. barbadense*, *G. hirsutum* e *G. mustelinum*, são arbustivas com tendências arborescentes (particularmente *G. barbadense*, formas caribenhas de *G. hirsutum* e *G. mustelinum*) (Fryxell, 1979, 1992). *G. barbadense* é uma espécie indígena na área ocidental da América do Sul com extensões na Mesoamérica, Caribe, e a América do Sul oriental (Turcotte & Percy 1990). O centro de diversidade morfológica para *G. hirsutum* é a Mesoamerica, mas distribuição indígena inclui o Caribe, o norte da América do Sul e algumas ilhas de Pacífico. *G. mustelinum* é encontrado somente em alguns locais discretos nos estados brasileiros de Bahia e Rio Grande do Norte.

Tabela 6. Sumário das subdivisões taxonômicas do gênero *Gossypium*, mostrando ploidia, designações genômicas e distribuição geográfica (Fryxell, 1979; 1992; Stewart 1995).

Subdivisões taxonômicas	Espécies	Ploidia (2n=)	Designação Genômica	Distribuição Geográfica
1. sub gênero <i>Karpas</i>	<i>G. barbadense</i> , <i>G. darwinii</i> , <i>G. hirsutum</i> , <i>G. mustelinum</i> , <i>G. tomentosum</i>	52	AD	América do Sul, América do Norte, Havaí, Ilhas Galápagos
2. sub gênero <i>Gossypium</i>				
2.1 seção <i>Gossypium</i>				
2.1.1 sub seção <i>Gossypium</i>	<i>G. arboreum</i> , <i>G. herbaceum</i>	26	A	África, Ásia
2.1.2 sub seção <i>Anomala</i>	<i>G. anomalum</i> , <i>G. captisviridis</i>	26	B	África
2.1.3 sub seção <i>Pseudopambak</i>	<i>G. areysianum</i> , <i>G. benadirensis</i> , <i>G. briccettii</i> , <i>G. incanum</i> , <i>G. somalense</i> , <i>G. stocksii</i> , <i>G. vollesenii</i>	26	E	África, Arábia
2.1.4 sub seção <i>Longiloba</i>	<i>G. longicalyx</i>	26	F	África
2.2 seção <i>Triphylla</i>	<i>G. triphyllum</i>	26	B	
2.3 seção <i>Serrata</i>	<i>G. trifurcatum</i>	26	B?	África
3. sub gênero <i>Sturtia</i>				
3.1 seção <i>Sturtia</i>	<i>G. robinsonii</i> , <i>G. sturtianum</i>	26	C	Austrália
3.2 seção <i>Grandicalyx</i>	<i>G. anapoides</i> , <i>G. costulatum</i> , <i>G. cunninghamii</i> , <i>G. enthyle</i> , <i>G. exiguum</i> , <i>G. londonderriense</i> , <i>G. marchantii</i> , <i>G. nobile</i> , <i>G. pilosum</i> , <i>G. populifolium</i> , <i>G. pulchellum</i> , <i>G. rotundifolium</i>	26	K	Austrália
3.3 seção <i>Hibiscoidea</i>	<i>G. australe</i> , <i>G. bickii</i> , <i>G.</i>	26	G	Austrália

4. sub gênero <i>Houzingenia</i>	<i>nelsonii</i>			
4.1 seção <i>Houzingenia</i>				
4.1.1 sub seção <i>Houzingenia</i>	<i>G. thurberi, G. trilobum</i>	26	D	México
4.1.2 sub seção <i>Integrifolia</i>	<i>G. davidsonii, G. klotzschianum</i>	26	D	México, Ilhas Galápagos
4.1.3 sub seção <i>Caducibracteolata</i>	<i>G. armourianum, G. harknessii, G. turneri</i>	26	D	México
4.2 seção <i>Erioxylum</i>				
4.2.1 sub seção <i>Selera</i>	<i>G. gossypoides</i>	26	D	México
4.2.2 subseção <i>Erioxylum</i>	<i>G. aridum, G. laxum, G. lobatum, G. schwendiamanii</i>	26	D	México
4.2.3 sub seção <i>Austroamericana</i>	<i>G. raimondii</i>	26	D	Peru

Populações de *Gossypium* spp. Presentes no Brasil

As três espécies de *Gossypium* que são encontradas no Brasil estão na forma silvestre, ruderal e cultivadas de diferentes maneiras. A Tabela 7 apresenta um resumo de como estas espécies são encontradas.

Gossypium hirsutum var. *latifolium* (algodão) ocorre no Brasil exclusivamente como cultígenos elite, que pode ser encontrado nos campos após o cultivo, como uma planta voluntária.

Gossypium hirsutum var. *marie-galante*, também conhecido como algodão Mocó, ocorre predominantemente em cultivos de “fundo de quintal” em algumas regiões, como na Região Amazônica e é encontrado de várias formas no Nordeste, tanto ruderal, cultivo de “fundo de quintal” quanto como cultivos comerciais, com variedades melhoradas. Plantas voluntárias são encontradas em campos cultivados. Algodoeiros descritos como *G. hirsutum* var. *marie-galante* são geneticamente diversos. Algodões chamados de “Verdões” são o resultado de hibridização entre *G. hirsutum* var. *marie-galante* e *G. hirsutum* var. *latifolium*. Além disso, algumas populações ruderais apresentando linter marrom encontradas no Nordeste poderiam refletir os cruzamentos entre *G. hirsutum* var. *marie-galante* e *G. mustelinum*. Entretanto, as distâncias geográficas entre as formas de algodão Mocó com linter marrom e *G. mustelinum* são grandes o suficiente para dizer que a probabilidade de troca de alelos entre estas populações é baixa.

Gossypium barbadense var. *barbadense*, também conhecido como algodão quebradinho foi introduzido no Brasil, vindo do Caribe ou Andes (Percy & Wendel, 1990). Embora estas plantas estejam presentes como variedades tradicionais, são essencialmente encontradas como populações ruderais. Cultivos de “fundo de quintal” também são encontrados em várias regiões do País.

O *Gossypium barbadense* var. *braziliensis*, também conhecido como “Rim de boi” ocorre como populações ruderais, cultivos de “fundo de quintal” e tradicionais.

O *Gossypium mustelinum* é encontrado apenas como uma espécie silvestre restrito a algumas áreas discretas nos estados do Rio Grande do Norte e Bahia (Freire, 2000). Não há relatos de que esteja sendo cultivado e tem sido considerado como uma espécie em extinção.

Tabela 7. Populações de *Gossypium* encontradas no Brasil que têm potencial para ser uma ponte para o fluxo gênico.

Espécies	Silvestre	Ruderal	Voluntária	“Fundo de quintal”	Tradicional	Cultivada
<i>G. hirsutum</i> var. <i>latifolium</i>			X			X
<i>G. hirsutum</i> var. <i>Marie-Galante</i>		X	X	X	X	X
<i>G. barbadense</i> var. <i>Barbadense</i>		X		X		
<i>G. barbadense</i> var. <i>Braziliense</i>		X	X	X	X	
<i>G. mustelinum</i>	X					

Escape gênico para parentes de outros gêneros de *Malvaceae* que ocorrem no Brasil

Várias espécies de *Malvaceae* ocorrem no Brasil. Entre estas espécies as mais relevantes para uma avaliação de risco de escape gênico são *Thespesia* spp. e *Cienfugosia* spp., além de outras espécies que ocorrem como ervas daninhas nos campos de algodão, como *Sida* spp. e *Malva* spp.

O gênero *Gossypium* pertence à família *Malvaceae* tribo *Gossypieae*. Existem apenas outros dois gêneros da tribo *Gossypieae* que ocorrem no Brasil, *Cienfugosia* ($2n = 20, 22$) e *Thespesia* ($2n = 26$). Embora não existam estudos mostrando a possibilidade de cruzamentos entre *Gossypium* spp com qualquer espécie das tribos *Cienfugosia* ou *Thespesia*, a enorme distância evolucionária entre estas (10 a 15 milhões de anos), a diferença no número de cromossomos e arquitetura reprodutiva dificulta qualquer expectativa de possibilidade de hibridizações entre *Gossypium* e *Cienfugosia* ou *Thespesia*.

A possibilidade de ocorrência de híbridos férteis entre algodoeiros Bt e outras espécies de ervas daninhas do gênero *Malvaceae* (como *Sida* spp. e *Malva* spp.), pode gerar conseqüências ambientais maiores que as que ocorreriam com a transferência do gene Bt entre espécies do gênero *Gossypium*, uma vez que nenhuma espécie de *Gossypium* pode ser caracterizada como erva daninha. Entretanto, as distâncias evolucionárias entre *Sida* ou *Malva* e *Gossypium* são maiores que aquelas entre *Cienfugosia* ou *Thespesia*. Apesar da ausência de dados experimentais, não existem expectativas de que ocorram cruzamentos de *Gossypium* com *Sida* ou *Malva*.

Possibilidades de Fluxo Gênico entre Algodão Bt e outros Algodoeiros Presentes no Brasil

Neste workshop, foram avaliados os vários fatores que podem afetar o fluxo gênico entre algodão Bt para populações presentes no Brasil com potencial de receberem os genes. A tabela 8 apresenta um resumo do resultado desta avaliação. Do ponto de vista do melhoramento genético do algodão e da avaliação de risco, as espécies de *Gossypium* podem ser subdivididas em três grupos, baseados em dois critérios (Stewart, 1995):

- 1) a possibilidade de gerar híbridos férteis com os algodoeiros Bt
- 2) a frequência de recombinação genética entre o algodoeiro Bt e outros tipos de algodoeiros que ocorrem no Brasil.

plantas cultivadas foram confirmados com marcadores moleculares?											
O sentido da polinização afeta a eficiência do cruzamento?	Não se sabe, provavelmente não	Não se sabe, provavelmente não	Não se sabe, provavelmente não	Não se sabe, provavelmente não	Não se sabe, provavelmente não	Não se sabe, provavelmente não					
Os híbridos F₁ são viáveis e vigorosos?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	
Os híbridos F₁ se reproduzem?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	
A geração posteriores dos híbridos é vigorosa e reprodutiva?	Alguns; Problemas com a F ₂ , <i>locus</i> Corky	Alguns; Problemas com a F ₂ , <i>locus</i> Corky	Alguns; Problemas com a F ₂ , <i>locus</i> Corky	Alguns; Problemas com a F ₂ , <i>locus</i> Corky	Alguns; Problemas com a F ₂ , <i>locus</i> Corky	Não	Não	Não	Não	Não	
Como é a adaptabilidade dos híbridos é influenciada pelo local e condições de crescimento?	Ver texto										
Os híbridos têm dormência nas sementes ou formam bancos de sementes?	Possivelmente, dormência curta (1-3 anos)	Não	Não	Não	Não	Não					
Plantas voluntárias são observadas anos após o cultivo?					Sim				Sim	Sim	Sim
Plantas voluntárias					Não observado				Não observado	Não observado	Teoricamente e possível

O pool gênico primário contém as espécies que podem naturalmente hibridizar com os algodoeiros Bt. Os dados sugerem que os algodoeiros indígenas presentes no Brasil pertencem ao pool gênico primário do algodão Bt (*G. hirsutum* var. *latifolium*). Assim, deve-se assumir que não existem barreiras citogenéticas para o fluxo gênico entre as espécies de *Gossypium*.

O pool gênico secundário é caracterizado por espécies que não podem formar híbridos férteis com o algodão cultivado sem que haja a intervenção do homem, mas ainda podem gerar híbridos férteis. Este germoplasma inclui as espécies diplóides que possuem os genomas A, B, D, e F. Nenhuma espécie desse pool gênico é encontrada no Brasil.

O pool gênico terciário contém as espécies que somente podem ser cruzadas com o algodoeiro cultivado com ajuda intensiva do homem. Mesmo quando híbridos podem ser obtidos, as estruturas cromossômicas são tão distintas que a frequência em que isso ocorre é muito baixa. Entre estas espécies estão as Africanas e Árabes com genoma E e as Australianas com genomas C, G, e K. Assim, entre as espécies silvestres de *Gossypium*, as espécies Australianas, juntamente com as espécies Árabe-Africanas com genoma E têm o menos potencial para servirem como uma ponte para o escape gênico do gene Bt presente no algodoeiro cultivado. Nenhuma espécie do pool gênico terciário ocorre no Brasil.

Baseado nas considerações acima, todas as formas de algodão que ocorrem no Brasil (Tabela 7) devem ser consideradas como membros no pool gênico primário de algodoeiros cultivados contendo o gene Bt. Conseqüentemente, não existem expectativas *a priori* de que existam barreiras genéticas ou citológicas que possibilitem o fluxo de genes presentes em algodoeiros Bt para as outras formas de algodão: *G. barbadense*, *G. hirsutum* e *G. mustelinum*. Estudos têm demonstrado que a introgressão de genes entre *G. barbadense* e *G. hirsutum* tem ocorrido (Brubaker et al., 1999). De fato, o fluxo gênico entre variedades comerciais de algodão não-transgênicos e algodoeiros indígenas, de cultivo de "fundo de quintal" e tradicionais tem ocorrido e é considerado preocupante (Barroso, Embrapa Algodão, comunicação pessoal). Existem poucas evidências para introgressão de genes em *G. mustelinum*, *G. barbadense* ou *G. hirsutum* (Wendel et al., 1994), deve ser mais atribuído a um reflexo do isolamento geográfico das populações de *G. mustelinum* do que qualquer mecanismo de isolamento genético (Wendel et al., 1994). Assim, devemos assumir que se as diferentes formas de algodão que ocorrem no Brasil estiverem presentes a uma distância em que seja possível a transferência de polens oriundos de algodoeiros Bt, haverá a possibilidade de fluxo gênico que irá requerer formas adequadas de manejo.

Como é possível isolar os campos cultivados e prevenir o fluxo gênico ?

Uma vez que não existem barreiras genéticas capazes de isolar as populações recipientes presentes no Brasil, será impossível eliminar completamente a possibilidade de fluxo gênico entre algodão Bt e outros tipos de algodão. Entretanto, é possível reduzir as chances de que fluxo gênico indesejável ocorra. Isto pode ser realizado restringindo-se às áreas em que determinadas variedades de algodão Bt possam ser cultivadas, com a exclusão de áreas críticas. Há um século, nos Estados Unidos se propôs que uma distância de 7,5 a 15 quilômetros seria necessária para prevenir cruzamentos naturais (Weber 1902, citado em Green & Jones, 1953). Dados mais recentes, também gerados nos Estados Unidos, mostraram que uma barreira de 7 a 10 linhas de plantas não-transgênicas pode reduzir o fluxo gênico, permitindo o escape de menos de 1% de pólen (Berkey et al., 2002; Umbeck et al., 1991). Entretanto, estes experimentos foram realizados com polinizadores presentes na América do Norte e em uma condição de cultivo intensivo. A distância em que a polinização é possível pode ser diferente em cultivos de "fundo de quintal" ou de baixa densidade. Além disso, o comportamento e frequência populacional dos polinizadores devem ser diferentes. Isto torna difícil a estimativa de distâncias de polinização, a serem utilizadas no sistema de manejo, baseadas nos dados já existentes. Portanto, estes dados devem ser gerados no Brasil. A ausência destes dados gerados no Brasil foi a primeira grande deficiência identificada. Vários marcadores genéticos (Arriola & Ellstrand, 1996) ou genes neutros como *gfp* (green fluorescent protein) e *nptII* (neomicina fosfotransferase) (Harper et al., 1999) podem ser úteis nesse estudo.

Possibilidade de estabelecimento e disseminação do transgene

Existem duas formas pelas quais um transgene pode escapar de campos cultivados, via pólen ou sementes. No caso primeiro caso, o pólen de uma planta doadora do gene fertiliza as plantas receptoras gerando híbridos. Existem três fatores principais que podem influenciar a adaptabilidade do híbrido: (1) isolamento genético, que causa baixa adaptabilidade, (2) nível e regulação temporal e espacial da expressão do transgene no organismo híbrido e (3) se a nova característica introduzida é importante para a adaptabilidade da população receptora. Nos casos em que o transgene é deslocado via semente, plantas voluntárias ou ruderais podem estabelecer populações

fora do ambiente agrícola. Nesse caso, a adaptabilidade decorrente da nova característica introduzida é o fator preponderante.

No caso da introdução de algodoeiros Bt no Brasil, está claro que existem poucas barreiras genéticas entre as espécies. Entretanto não é muito claro se a expressão do gene Bt nas plantas híbridas seria similar à observada nas variedades cultivadas originais. As diferenças entre o “background” genético de *G. mustelinum* e algodão Mochô pode interferir nos níveis de expressão do gene Bt. Mais importante ainda é ter informações sobre uma possível adaptabilidade gerada em decorrência da introgressão do gene Bt em populações presentes no ambiente agrícola ou fora dele, sob pressão de insetos. Assim, a segunda deficiência identificada foi a falta de informação sobre o efeito da adaptabilidade em decorrência da introgressão do gene Bt em populações de *Gossypium*.

A adaptabilidade irá determinar a taxa de disseminação de um gene (Burke et al., 2002, 2003; Ellstrand et al., 1999; Snow & Palma, 1997). Se a introgressão do gene Bt em uma população for capaz de diminuir a predação por herbívoros em *Gossypium* spp., pode-se esperar que este gene terá um efeito positivo sobre a adaptabilidade, com aumento da população receptora. Se o gene Bt apresentar um efeito neutro sobre a adaptabilidade, o transgene poderá ainda ser disseminado, mas em uma velocidade bastante lenta. Se o gene apresentar um efeito negativo sobre a adaptabilidade dos indivíduos receptores, dificilmente o gene irá ser disseminado na população receptora. (Bergelson & Purrington, 2002; Ellstrand et al., 1999).

Monitoramento, Mitigação e Conseqüências do Fluxo Gênico

Para a liberação para o plantio em larga escala de variedades transgênicas, deve-se ter conhecimento básico sobre as possibilidades de fluxo gênico. Estes estudos são fundamentais para minimizar as chances de fluxo gênico indesejável. Após a liberação comercial, o estabelecimento de zonas de exclusão ou zonas obrigatórias para remoção de plantas voluntárias ou receptoras de transgenes, pode ser útil na redução das possibilidades de fluxo gênico. Entretanto, no caso da introdução de algodão Bt no Brasil, é fundamental que se tenha em mente que, uma vez que não existem barreiras genéticas entre as espécies do pool gênico, o fluxo gênico ocorrerá. Então as questões mais importantes envolvem o estudo do impacto da transferência de transgenes para populações recipientes.

As conseqüências da introdução de genes Bt em populações não transgênicas de *Gossypium* estão relacionadas à adaptabilidade das plantas recipientes com conseqüências para a diversidade destas populações. Como já mencionado, existem apenas algumas poucas populações de *G. mustelinum*, que, devido à destruição de seus habitats, tem sido indicada como uma espécie em risco de extinção.

O gene Bt pode ser mantido por um longo período no ambiente, tanto nos campos agrícolas quanto foras destes. Se uma das plantas sexualmente compatíveis com *G. hirsutum* apresentar dormência nas sementes, os híbridos podem também ter esta característica e manter o gene Bt no campo por um período mais longo. Além disso, podem ocorrer híbridos com *Gossypium* spp. perenes, que podem permanecer no campo por várias estações.

Caso haja possibilidade de aumento da adaptabilidade em populações ruderais ou de “fundo de quintal”, haverá também a possibilidade de aumento de problemas com ervas daninhas, embora as populações ruderais não sejam consideradas como daninhas.

Duas questões relacionadas à perda de pureza foram levantadas: se o fluxo gênico ocorrer na direção de (1) cultivos orgânicos de algodão ou (2) cultivos convencionais não transgênicos, nichos de mercado podem ser colocados em risco. Este fato é ainda mais relevante em cultivos para produção de sementes.

O monitoramento de todas as espécies de *Gossypium* deve ser realizado para determinar possíveis alterações, especialmente as populações de *G. mustelinum*

Recomendações e Conclusões

As recomendações foram organizadas dentro de uma escala de tempo que reflete os estágios de desenvolvimento de um organismo geneticamente modificado (Tabela 9). O corpo de dados necessário vai desde informações básicas relacionadas com o cultivo agrícola até aquelas relacionadas com a transformação, dentro de um contexto de ecologia. O impacto ecológico aumenta de um estágio para outro, até a liberação comercial. O grupo participante do workshop concorda que todos os dados relevantes para a avaliação dos riscos relacionados ao fluxo gênico devem ser obtidos até a etapa 4 (Tabela 9).

Tabela 9. Necessidade de ensaios e informações para avaliação de risco relacionada ao fluxo de genes entre plantas cultivadas e seus parentes silvestres.

Etapa	Questões a serem respondidas	Observações
1. Transformação da planta	<p>Que espécie será transformada?</p> <p>Existem parentes que convivam geograficamente?</p> <p>Existe sobreposição fenológica entre a planta cultivada e as espécies aparentadas?</p> <p>Quão diversa é a população de espécies aparentadas?</p>	Procurar dados existentes na literatura e com especialistas. Se os dados não estiverem disponíveis, haverá necessidade de experimentação.
2. Análises de eventos no laboratório	Mesmas questões da etapa 1.	
3. Caracterização do evento no laboratório	<p>Até que distância o pólen da planta pode ser naturalmente levado?</p> <p>Como se comportam os híbridos entre a planta cultivada e as populações recipientes?</p> <p>Os transgenes terão expressão distintas em diferentes "backgrounds"?</p> <p>A herança dos transgenes é estável por várias gerações?</p> <p>O transgene tem efeito sobre a adaptabilidade?</p> <p>Efeitos pleiotrópicos têm sido observados em decorrência da presença do transgene?</p>	<p>Na casa de vegetação ou campo utilizando plantas não transgênicas.</p> <p>Na casa de vegetação com plantas transgênicas.</p>
Etapa 4. Teste de campo em pequena escala	<p>Que populações de espécies aparentadas ocorrem na área de teste?</p> <p>Como o fator adaptabilidade e fenologia da planta cultivada e parentes variam em diferentes locais, anos e em híbridos?</p> <p>Como se compara os híbridos com a planta cultivada e as populações de ervas daninhas em condições reais?</p>	No campo com plantas transgênicas.
Etapa 5. Teste de campo em grande áreas	Mesmas perguntas anteriores. Monitoramento de plantas voluntárias.	Em áreas onde as plantas cultivadas devem ser testadas, tanto em campos agrícolas quanto naturais.
Etapa 6. Uso comercial	Monitoramento de plantas voluntárias. Remoção de plantas em áreas críticas.	Em áreas onde as plantas cultivadas devem ser testadas, tanto em campos agrícolas quanto naturais.

Se o algodão Bt for introduzido comercialmente no Brasil, haverá oportunidade clara para a que ocorra o fluxo dos transgenes para outros tipos de algodão. Se houver uma vantagem adaptativa decorrente da transferência do gene *cry* para outras espécies de *Gossypium*, poderá haver estabelecimento e disseminação. Os locais onde o algodão Bt será introduzido e como estes cultivos serão manejados irão influenciar as conseqüências e sua extensão.

Seção V - Evolução da Resistência e Manejo

Celso Omoto, Aline H. N. Maia, Edvaldo Cia, Gary Fitt, José Magid Waquil, Mathilda Okech, Mike Caprio, Nguyen Huu Huan, Tim Dennehy, Zuleide A. Ramiro

A primeira geração de algodão geneticamente modificado foi resultante da incorporação de genes que codificam a proteína Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* para o controle de alguns lepidópteros-praga. Para aumentar o espectro de controle de pragas, e também para retardar a evolução da resistência de pragas às toxinas expressas pelas plantas GM, a incorporação de mais de uma toxina na planta (Cry1Ac e Cry2Ab ou Cry1Ac e Cry1F, além de outros eventos) tem sido considerada. Devido à expressão contínua de toxina(s) ao longo do ciclo da cultura pelas plantas GM, uma das grandes ameaças tem sido a possibilidade de uma rápida evolução da resistência de pragas à(s) toxina(s) expressa(s) pelas mesmas.

Sendo assim, no presente Grupo de Trabalho foram discutidos os principais aspectos a serem considerados na elaboração de um plano preventivo para o manejo de resistência de pragas com a introdução de algodão Bt no Brasil.

Principais questões consideradas:

A. Espécies alvo: Considerando-se a exploração de algodão Bt, que expressa proteínas de *Bacillus thuringiensis* (Bt), foram identificadas quatro espécies alvo: *Heliothis virescens* (lagarta-das-maçãs), *Alabama argillacea* (curuquerê-do-algodoeiro), *Pectinophora gossypiella* (lagarta rosada) e *Spodoptera frugiperda* (lagarta militar). Historicamente, as três primeiras espécies têm sido consideradas pragas-chave do algodoeiro. Com a introdução de *Anthonomus grandis* (bicudo) e variedades de algodão suscetíveis a vírus transmitidos por *Aphis gossypii* (pulgão), houve mudança radical no sistema de produção de algodão, principalmente com a expansão de cultivo na região do Cerrado (aproximadamente 70% da produção). E também, com a exploração do cultivo do milho nas diferentes épocas de plantio (verão, safinha e inverno), *S. frugiperda* tem se tornado um problema bastante sério tanto na cultura do algodão quanto na de milho.

B. Histórico de resistência: Para se avaliar o potencial de evolução de resistência de pragas alvo às plantas GM, poder-se-ia considerar os casos detectados de resistência destas pragas a outras táticas de controle. Infelizmente os estudos nesta área são bastante carentes no Brasil, mesmo com os inseticidas convencionais que têm sido a ferramenta mais utilizada no controle de pragas. Alguns casos de insucessos no controle de algumas pragas podem estar relacionados com eventual problema de resistência, tais como em *H. virescens* (organoclorados e organofosforados), *A. argillacea* (principalmente com organofosforados e piretróides) e *S. frugiperda* (organofosforados, piretróides e inibidores de biosíntese de quitina).

C. Risco potencial de evolução de resistência: Para a avaliação do potencial de risco de evolução de resistência de pragas-alvo às plantas GM, há necessidade de se considerar os fatores que afetam a evolução, ou seja, os fatores genéticos, biológicos/ecológicos e operacionais.

1. Fatores genéticos: Dentro do contexto genético, a evolução de resistência depende da frequência inicial do(s) alelo(s) resistente(s), padrão herança da resistência, custo adaptativo relativo dos indivíduos resistentes e fluxo gênico.

- Frequência inicial de resistência: A estimativa da frequência inicial de resistência é difícil. Valores entre 10^{-12} a 10^{-3} têm sido considerados em estudos de simulação através de modelos matemáticos para avaliar a evolução de resistência em diferentes situações. Logicamente, quanto maior a frequência inicial, maior a velocidade com que a resistência evolui para a frequência crítica, ou seja, a frequência a partir da qual a resistência passa a comprometer a eficácia das plantas geneticamente modificadas.

- Padrão de herança da resistência: A herança da resistência tem sido geralmente monogênica e recessiva ou incompletamente recessiva na maioria dos casos detectados de resistência de pragas a Bt utilizado em pulverização. Nestas condições, os indivíduos heterozigotos apresentam o fenótipo suscetível e a evolução de resistência poderia ser retardada e apenas os indivíduos homozigotos resistentes seriam selecionados pelas plantas GM. Caso haja presença de refúgio para indivíduos suscetíveis, a probabilidade de acasalamento dos indivíduos resistentes selecionados com indivíduos suscetíveis seria bastante alta e toda progênie resultante deste acasalamento seria heterozigota e suscetível às plantas GM (caso a resistência seja funcionalmente recessiva). No entanto, a condição recessiva da resistência não pode ser generalizada, pois em algumas situações a resistência pode ser um caráter dominante. A dominância funcional da resistência só poderá ser conhecida após a evolução de resistência em condições de campo.

- **Custo adaptativo relativo dos indivíduos resistentes:** Os indivíduos resistentes apresentam um menor valor adaptativo relativo do que os indivíduos suscetíveis pelo menos no início da evolução de resistência. Caso contrário, a frequência de resistência seria alta mesmo antes da liberação comercial das plantas GM. O custo adaptativo da resistência tem sido relacionado a parâmetros que são relevantes para a sobrevivência e reprodução da espécie. Assim como o padrão de herança da resistência, o custo adaptativo da resistência só poderá ser estimado após a evolução da resistência em condições de campo. No entanto, nos estudos de simulação através de modelos matemáticos têm sido assumido que há custo adaptativo dos indivíduos resistentes e a exploração deste custo tem sido uma das bases fundamentais para as estratégias de manejo de resistência.

- **Fluxo gênico:** O fluxo gênico em uma determinada população estará na dependência de fatores biológicos/ecológicos da praga, principalmente relacionados à capacidade de dispersão da espécie. Estes aspectos serão discutidos a seguir.

2. Fatores bioecológicos das pragas-alvo:

- **Taxa de reprodução e tempo para desenvolvimento:** Quanto maior a capacidade reprodutiva e menor o tempo para completar o desenvolvimento da praga, maior será a razão intrínseca de aumento. Nestas condições, um maior número de indivíduos em curto período de tempo estaria sob a pressão de seleção de plantas geneticamente modificadas e a resistência evoluiria rapidamente.

- **Hábito alimentar:** a evolução de resistência seria menos rápida para espécies polífagas do que monófagas. Em espécies polífagas, as plantas hospedeiras alternativas da praga poderiam servir de refúgio para indivíduos suscetíveis. Sendo assim, a evolução de resistência poderia ser acelerada para *A. argillacea* que é uma espécie monófaga. *P. gossypiella* e *H. virescens* também podem ser consideradas especialistas nas condições brasileiras atacando a cultura do algodão e algumas malváceas relacionadas. Por outro lado, *S. frugiperda* que é uma espécie altamente polífaga poderia apresentar um retardamento na evolução de resistência, caso outras plantas hospedeiras possam abrigar indivíduos suscetíveis para diluir a resistência. Por outro lado, há necessidade de se avaliar se uma mesma proteína não é incorporada em plantas hospedeiras distintas que apresentam pragas-alvo em comum. Nestas condições, a evolução de resistência poderia ocorrer rapidamente para esta espécie polífaga.

- **Mobilidade da espécie:** O conhecimento da capacidade de dispersão de uma determinada espécie dentro de uma região será de grande importância para a definição do tamanho e arranjo espacial de áreas de refúgio. Além disso, há necessidade de avaliar se uma determinada espécie apresenta hábito migratório. Por exemplo, o algodão geneticamente modificado já é cultivado na Argentina, e muitas das pragas que ocorrem por lá também infestam a cultura do algodão no Brasil. Portanto, é fundamental o conhecimento da dispersão das pragas-alvo. Por exemplo, caso *A. argillacea* seja selecionada para resistência na Argentina e migrar para o Brasil, o processo de evolução de resistência poderia ser acelerado nas nossas condições.

- **Fatores bióticos de mortalidade da praga:** Os fatores bióticos de mortalidade da praga deverão ser considerados. Teoricamente, os inimigos naturais de pragas não seriam capazes de discriminar indivíduos suscetíveis de resistentes. Portanto, todas as estratégias para a preservação e/ou aumento de inimigos naturais na área devem ser consideradas.

Tabela 10. Alguns parâmetros das pragas-alvo para a avaliação de risco de resistência.

Pragas-Alvo	Hospedeiros	Fecundidade ovos/fêmea	Nº gerações em algodão	Nº de gerações por ano	Histórico de resistência*	Risco de resistência
<i>H. virescens</i>	poucos	500-800	2-3	2-3	OCI, OP	2
<i>A. argillacea</i>	algodão	250-500	2-3	2-3	OP, Pyr	2
<i>P. gossypiella</i>	poucos	800-1000	3-5	3-5	?	2
<i>S. frugiperda</i>	muitos	750-1250	2-3	5-6	OP, Pyr, RCI	1

OCI = organoclorado; OP = organofosforado; Pyr = piretróide e RCI = regulador de crescimento de inseto

3. Fatores operacionais:

São os fatores relacionados às características da planta e à intensidade de uso.

- **Características da proteína na planta:** A expressão da concentração da proteína nas plantas geneticamente modificadas poderá ser controlada. Há controvérsias com relação ao que seria mais vantajoso para o manejo da resistência, ou seja, expressão da proteína em alta ou baixa concentração. A expressão da proteína em alta concentração visa o controle da grande maioria de indivíduos suscetíveis e heterozigotos (caso a herança da resistência seja recessiva). A expressão da proteína em baixa concentração visa preservar alguns indivíduos

suscetíveis na população, ou seja, a concentração expressa pelas plantas geneticamente modificadas não é suficiente para a mortalidade total de indivíduos suscetíveis. Na tentativa de diminuir a exposição da praga à proteína, poder-se-ia incorporar um promotor que controlasse a expressão da proteína somente nos tecidos alvos da planta (ao invés da expressão em todas as partes da planta) e/ou apenas no período crítico de infestação da planta à praga em questão. Além disso, uma outra discussão tem sido com relação à incorporação de uma proteína ou mais de uma em uma mesma planta. Devido à complexidade de pragas na cultura do algodão, a incorporação de duas toxinas na planta seria recomendada.

- Intensidade de uso: o processo determinante na evolução de resistência é a pressão seletiva exercida por um determinado agente de controle da praga. Portanto, com a redução de uso das plantas geneticamente modificadas, a evolução de resistência poderia ser retardada. Há necessidade de limitar a área e época de plantio com as plantas geneticamente modificadas. Este limite de plantio deverá ser avaliado regionalmente, levando-se em consideração as características do ecossistema (clima, culturas, irrigação etc.). Há muita discussão relacionada ao tamanho e disposição de áreas de refúgio. Além disso, há necessidade de avaliar se uma mesma proteína (ou proteínas que apresentam resistência cruzada) não é utilizada em plantas distintas que apresentam algumas pragas-alvo em comum. Caso isto ocorra, a pressão seletiva exercida sobre uma determinada praga seria maior, favorecendo assim a evolução de resistência a esta proteína expressa pelas duas plantas geneticamente modificadas. Em suma, as estratégias de uso de plantas geneticamente modificadas serão fundamentais para avaliar a durabilidade desta nova tecnologia no controle de pragas. As plantas geneticamente modificadas deverão ser consideradas como uma ferramenta adicional para os programas de MIP.

Recomendações práticas para implementação de estratégias de manejo de resistência

Foram levantadas inúmeras incertezas na elaboração da presente recomendação, principalmente devido à limitação de dados relativos aos aspectos bioecológicos das pragas alvo nas diferentes regiões (p. ex. migração, diapausa, capacidade de dispersão, acasalamento etc.). Além disso, para a implementação de estratégias de manejo de resistência em algodão Bt, há necessidade de uma melhor compreensão do sistema de cultivo em uma determinada região, principalmente com relação à possibilidade ou não de incorporação de genes de Bt em outros cultivos. Apesar de todas as incertezas, no presente estudo de caso foram consideradas duas situações de liberação de algodão Bt expressando duas proteínas na presença e ausência de liberação simultânea de milho Bt, uma vez que *S. frugiperda* é praga-chave das duas culturas. As seguintes recomendações foram sugeridas:

Situação 1: Algodão Bt e sem Milho Bt

Componentes:

1. Incorporação de duas toxinas (Cry1Ac + Cry2Ab) no algodão
 - alta dose para *H. virescens*, *P. gossypiella*, and *A. argillacea*
 - baixa dose para *S. frugiperda*
2. Refúgio estruturado em algodão
 - 20% da área total de algodão deve ser plantado com variedades convencionais (refúgio)
 - Campos de algodão Bt devem estar localizados a uma distância de 1,5 Km das áreas de refúgio.
 - A largura das áreas de refúgio deve ter pelo menos 60 fileiras.
 - As áreas de refúgio podem ser pulverizadas (exceto com produtos à base de Bt)

Situação 2. Algodão Bt e Milho Bt

Componentes:

1. Incorporação de duas toxinas (Cry1Ac + Cry2Ab) no algodão
2. Incorporação de uma toxina no milho (3 possibilidades)
 - Cry1Ab -- baixa dose para *S. frugiperda*
 - Cry1F ou Vip3A – alta dose para *S. frugiperda*
3. Refúgio estruturado em algodão
 - Requerimento provisório de plantio de 20% da área total de algodão com variedades convencionais (refúgio)
 - Revisão das recomendações de área de refúgio baseado em:
 - se a porcentagem total de cultivos Bt (algodão e milho) em qualquer região exceder 50% em qualquer época de cultivo;
 - informações relativas à produção de indivíduos suscetíveis em área de refúgio e outros hospedeiros alternativos;
 - informações relativas à sobrevivência de *S. frugiperda* em cultivos Bt.
 - Campos de algodão Bt devem estar localizados a uma distância de 1,5 Km das áreas de refúgio.
 - A largura das áreas de refúgio deve ter pelo menos 60 fileiras.
 - As áreas de refúgio podem ser pulverizadas (exceto com produtos à base de Bt).

Estas estratégias de resistência para algodão Bt devem ser implementadas dentro do contexto de MIP, considerando-se principalmente os seguintes aspectos:

- a. Levantamento da densidade populacional da praga e tomada de decisão obedecendo-se o nível para o controle;
- b. Estratégias para a conservação de inimigos naturais;
- c. Desenvolvimento e uso de variedades de algodão resistentes a agentes causais de doenças transmitidas pelo pulgão;
- d. Ênfase no controle do bicudo, incluindo época de plantio, armadilhas de feromônio, destruição de restos de cultura etc.;
- e. Conduzir estudos de linha-básica de suscetibilidade das pragas-chave às toxinas de Bt para o monitoramento da resistência;
- f. Estabelecimento de grupos regionais de trabalho para avaliar as recomendações de estratégias de manejo de resistência e tomar medidas de ação proativas;
- g. Promover programas educacionais e incentivos à pesquisa.

Comentários e conclusões

Deise M. F. Capalbo, Eliana M.G. Fontes, Angelika Hilbeck, David Andow e colaboradores²

- **O processo de Formulação do Problema e Avaliação das Opções (FPAO) é útil e deve ser implementada no Brasil.**

Inicialmente o grupo de trabalho não reconheceu o valor do processo FPAO como forma de resolver os conflitos envolvidos com o tema das plantas GM. Ao final dos trabalhos, entretanto, os participantes aprovaram o processo e discutiram formas de implementá-lo e institucionalizá-lo. O grupo decidiu que eles precisariam envolver um grupo maior de representantes da sociedade organizada para rever e implementar o processo FPAO e desenvolver procedimentos que assegurem a representatividade adequada dos setores da sociedade quando o FPOA for conduzido. Eles também consideraram como intitucionalizar o processo de tal forma que o poder de controle do mesmo esteja ao cargo dos diversos órgãos regulamentadores.

- **É possível analisar todos os aspectos da caracterização do transgene (estrutura e expressão do locus), baseados em protocolos experimentais cientificamente estabelecidos.**

Alguns dos pontos chave são:

- A seqüência do DNA do transgene e das regiões flaqueadoras, como ocorrem na planta, devem ser relatadas.
- Alguns aspectos da caracterização do transgene devem ser realizados utilizando métodos moleculares e bioquímicos. Entretanto, alguns destes aspectos que não possam ser caracterizados com estes métodos, devem ser feitos utilizando toda a planta em condições de campo. Isto inclui pleiotropia, epistasia e interações genótipo x ambiente.
- A transformação para pesquisa pode se basear em vários genes marcadores e o backbone do plasmídeo Ti, enquanto que a transformação para fins comerciais deve tentar eliminar os genes marcadores e o backbone do plasmídeo Ti, além de selecionar eventos de transformação simples com um único loci transgênico para desenvolvimento.

- **O impacto ambiental associado ao algodão Bt no Brasil irá variar de acordo com as regiões de plantio.**

Apesar da avaliação de impacto não ter sido completada, as discussões durante o Workshop deixaram claro que os impactos sobre os organismos não alvo e a possibilidade de evolução de resistência e fluxo gênico serão diferentes em cada uma das regiões – Nordeste, Centro-Oeste e Meridional. Apesar de haver variação significativa entre as regiões, e de alguns dos impactos estarem muito relacionados com o tamanho da propriedade e o manejo utilizado na cultura, a estratificação da avaliação de risco pelo tamanho da propriedade e pela forma de manejo muito certamente resultará em uma avaliação de risco muito complexa, o que dificultará o manejo destes riscos.

Região Nordeste – A expressão do transgene poderá ser desestabilizada nesta região devido à variabilidade ambiental e ao estresse físico a que o algodão será submetido. O risco de fluxo gênico é significativo. A raça local *Marie galante*, a espécie *G. barbadense*, e outras variedades de algodão localmente adaptadas estão presentes nesta região e poderão ser afetadas. A agricultura nesta região é de pequena escala e a produtividade é baixa em relação à média brasileira. Um manejo eficiente da resistência pode ser difícil devido à escala de cultivo. As espécies não alvo também são únicas nesta área e requerem uma avaliação específica. O bicudo do algodoeiro, em particular, requer avaliação cuidadosa uma vez que esta espécie é um fator chave para o sucesso da produção de algodão nesta área, tanto em termos de área de produção como de produtividade.

Região Centro-Oeste – Nesta região predomina o plantio em larga escala e o rendimento é dos mais elevados. Algumas áreas iniciaram o cultivo do algodão apenas nos últimos cinco anos. Os riscos de fluxo gênico estão associados a outras linhagens de algodão comercial, entretanto eles são menos significativos do que no Nordeste. Um manejo de resistência, efetivo, poderá ser mais facilmente realizado nesta região, pois a escala de produção é tão grande que os produtores poderão internalizar tanto os custos quanto os benefícios deste manejo. A uniformidade do relevo do ecossistema de Cerrado e a “simplificação” oriunda do sistema em larga escala resulta numa limitada, mas não menos característica, fauna de organismos não alvo que também deve ser analisada criteriosamente.

Região Meridional – Nesta região predomina a produção de média a larga escala, com elevados rendimentos, porém não tão altos quanto no Centro-Oeste. Os riscos de fluxo gênico estão associados a outras linhagens de algodão comercial, sendo portanto menos significativos do que na região Nordeste. Um manejo de resistência eficiente também pode ser desenvolvido nesta região, em parte devido à diversidade do sistema de

² Todos os demais participantes do Workshop, listados no final deste relatório.

produção, que provê refúgios adicionais para *Spodoptera*. Também porque a escala de produção é ampla o suficiente para que os produtores sejam capazes de implementar sistemas de manejo de resistência. A paisagem é menos uniforme do que no Centro-Oeste, mas a fauna não alvo existente nos campos de algodão se assemelha àquela.

Região Amazônica – Atualmente esta região não produz algodão, assim os riscos de atingir organismos não alvo e de ocorrer evolução de resistência de pragas são irrelevantes aqui. Entretanto, a região amazônica conserva várias espécies selvagens aparentadas a *G. hirsutum*, que poderão ser afetadas, negativamente, por fluxo gênico.

- **Foram identificados e priorizados riscos ambientais potenciais bem como alguns pontos que carecem de informações; para estes aspectos foram desenvolvidos protocolos que permitirão preencher estas lacunas. Os resultados obtidos no Workshop podem ser incorporados ao sistema de regulamentação brasileiro e/ou serem utilizados na obtenção de recursos para completar as análises necessárias.**

Este pode parecer uma conclusão trivial, mas o que ela significa, realmente, é que um grande número de cientistas brasileiros sabe como utilizar seus conhecimentos para avaliar os riscos ambientais potenciais do algodão Bt e de outras plantas GM. Uma de nossas conclusões é que o sistema regulatório brasileiro poderia ser alterado de forma a permitir avaliações em maiores áreas experimentais (situação de campo) antes da autorização para comercialização, porque a avaliação de risco exige o estudo de muitos elementos cujos resultados só serão significativos se obtidos em áreas mais extensas do que as que vigoram atualmente.

- **O processo utilizado no Workshop pode ser adotado para avaliar, com o rigor científico e a transparência desejáveis, os riscos das plantas GM, como requerido pelo Protocolo de Biossegurança.**

Utilizando e desenvolvendo o processo aqui apresentado, um país como o Brasil poderá cumprir suas obrigações de avaliação de risco como proposto no Protocolo de Biossegurança. Foram desenvolvidos procedimentos científicos eficientes e transparentes para selecionar, dentre um elevado número e diversidade de espécies possíveis, um número muito menor que sirva como organismo-teste numa avaliação de risco para organismos não alvo (matrizes de seleção). Isto demonstra que a avaliação de risco pode ser iniciada com base num sistema caso-a-caso. Também foi desenvolvido um processo de avaliação em estágios, que corresponde aos estágios de desenvolvimento de um organismo GM, desde a transformação de linhagens de células até a liberação do produto comercial. Analisar o risco em etapas ou estágios, desta forma, permite que a análise aconteça de uma forma periódica, sem comprometer sua qualidade por questões de falta de tempo, e sem requerer mais trabalho do que o necessário. Durante as análises pré-comerciais, três níveis de avaliação são necessários:

- Laboratório e casa de vegetação
- Testes de campo em pequena escala
- Testes de campo em larga escala

O Workshop foi uma experiência valiosa – muito trabalho, mas gratificante para todos – e esperamos continuar esses trabalhos e esforços no futuro.

Referências

- ARRIOLA, P. E.; ELLSTRAND, N. C. Crop-to-weed gene flow in the genus *Sorghum* (Poaceae): spontaneous interspecific hybridization between johnsongrass, *Sorghum halepense*, and crop sorghum, *S. bicolor*. **American Journal of Botany**, v. 83, p. 1153-1160, 1996.
- BEASLEY, J. O. The origin of American tetraploid *Gossypium* species. **American Naturalist**, v. 74, p. 285-286, 1940.
- BEASLEY, J. O. Meiotic chromosome behavior in species, species hybrids, haploids and induced polyploids of *Gossypium*. **Genetics**, v. 27, p. 25-54, 1942.
- BERGELSON, J.; PURRINGTON, C. B. Factors affecting the spread of resistant *Arabidopsis thaliana* populations. In: LETOURNEAU, D. K.; BURROWS, B. E. (Ed.). **Genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects**. Boca Raton: CRC Press, 2002. p. 33.
- BERKEY, D. A.; SAVOY, B. R.; MILLER, S. R.; JOHNSON, P. G. **Pollen dissemination from adjacent fields of genetically enhanced cotton in the Mississippi delta**. Beltwide: Beltwide Cotton Conferences, 2002.
- BRUBAKER, C. L.; BOURLAND, F.; WENDEL, J. F. (1999). The origin and domestication of cotton. In: SMITH, C.; COTHREN, J. **Cotton: origin, history, technology, and production**. New York: J. Wiley, 1999. p. 3-31.
- BURKE, J. M.; RIESEBERG, L. H. Fitness effects of transgenic disease resistance in sunflowers. **Science**, v. 300, p.1250-1250, 2003.
- BURKE, J. M.; GARDNER, K. A.; RIESEBERG, L. H. The potential for gene flow between cultivated and wild sunflower (*Helianthus annuus*) in the United States. **American Journal of Botany**, v. 89, p.1550-1552, 2002.
- DEJOODE, D. R.; WENDEL, J. F. Genetic diversity and the origin of the Hawaiian Islands cotton, *Gossypium tomentosum*. **American Journal of Botany**, v. 79, p.1311-1319, 1992.
- EDWARDS, G. A.; MIRZA, M. A. Genomes of the Australian wild species of cotton. II. The designation of a new G genome for *Gossypium bickii*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 21, p. 367-372, 1979.
- ELLSTRAND, N. C.; PRENTICE, H. C.; HANCOCK, J. F. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 30, p. 539-563, 1999.
- ENDRIZZI, J. E.; TURCOTTE, E. L.; KOHEL, R. J. Genetics, cytology, and the evolution of *Gossypium*. **Advanced Genetics**, v. 23, p. 271-375, 1985.
- FREIRE, E. C. **Distribuição, coleta, uso e preservação das espécies silvestres de algodão no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2000.
- FRYXELL, P. A. **The natural history of the cotton tribe**. College Station: Texas A&M University Press, 1979.
- FRYXELL, P. A. A revised taxonomic interpretation of *Gossypium* L. (Malvaceae). **Rhedea**, v. 2, p.108-165, 1992.
- GREEN, J. M.; JONES, M. D. Isolation of cotton for seed increase. **Agronomy Journal**, v. 45, p. 366-368, 1953.
- HARPER, B. K.; MABON, S. A.; LEFFEL, S. M.; HALFHILL, M. D.; RICHARDS, H. A.; MOYER, K.A.; STEWART, C. N. Green fluorescent protein as a marker for expression of a second gene in transgenic plants. **Nature Biotechnology**, v.17, p. 1125-1129, 1999.
- HASENKAMPF, C. A.; MENZEL, M.Y. Incipient genome differentiation in *Gossypium*. II. Comparison of 12 chromosomes in *G. hirsutum*, *G. Mustelinum*, and *G. tomentosum* using heterozygous translocations. **Genetics**, v. 95, p. 971-983, 1980.
- HUTCHINSON, J. B. Intra-specific differentiation in *Gossypium hirsutum*. **Heredity**, v. 5, p. 161-193, 1951.
- HUTCHINSON, J. B.; SILOW, R. A.; STEPHENS, S. G. **The evolution of *Gossypium***. London: Oxford University Press, 1947.
- MALERBO-SOUZA, D. T.; SANCHEZ JR., J. L. B.; ROSSI, M. M. Insetos associados às flores do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 5., 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP, 2002. p. 345.
- MCGREGOR, S. E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. On line book, 1996. Disponível: <http://gears.tucson.ars.ag.gov/book/index.html>, USDA. Acesso em: 7 out. 2003.

- PERCY, R. G.; WENDEL, J. F. Allozyme evidence for the origin and diversification of *Gossypium barbadense* L. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 79, p. 529-542, 1990.
- PHILLIPS, L. L.; STRICKLAND, M. A. The cytology of a hybrid between *Gossypium hirsutum* and *G. longicalyx*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 8, p. 91-95, 1966.
- SIMPSON, D. M. **Natural cross-pollination in cotton**. Washington: U.S.D.A., 1954. 17 p. (U.S.D.A. Technical Bulletin, 1094).
- SNOW, A. A.; PALMA, P. M. Commercialization of transgenic plants: potential ecological risks. **Bioscience**, v. 47, p. 206-208, 1997.
- STEPHENS, S. G. The composition of an open pollinated segregating cotton population. **American Naturalist**, v. 90, n. 850, p. 25-39, 1956.
- STEWART, J. M. Potential for crop improvement with exotic germplasm and genetic engineering. In: CONSTABLE, G. A.; FORRESTER, N. W. (Ed.). **Challenging the future**: Proceedings of the World Cotton Research Conference-1. Melbourne: CSIRO, 1995.
- TURCOTTE, E. L.; PERCY, R. G. Genetics of kidney seed in *Gossypium barbadense* L. **Crop Science**, v. 30, p. 384-386, 1990.
- UMBECK, P. F.; BARTON, K. A.; NORDHAIM, E. V.; MCCARTY, J. C.; PARROTT, W. L.; JENKINS, J. N. Degree of pollen dispersal by insects from a field test of genetically engineered cotton. **Journal of Economic Entomology**, v. 84, p. 1943-1950, 1991.
- WATT, G. **The wild and cultivated cotton plants of the world**. London: Longmans, Green and Co., 1907.
- WENDEL, J. F. New world tetraploid cottons contain old world cytoplasm. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, p. 4132-4136, 1989.
- WENDEL, J. F.; ROWLEY, R.; STEWART, J. M. Genetic diversity in and phylogenetic relationships of the Brazilian endemic cotton, *Gossypium mustelinum* (Malvaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 192, p. 49-59, 1994.

Agradecimentos

As coordenadoras deste documento e os organizadores do Workshop apresentam os agradecimentos à SDC/Suíça, à Embrapa, à FINEP e ao Ministério da Ciência de Tecnologia pelo apoio financeiro recebido.

Participantes das Sessões do Workshop

Sessão I - Formulação do Problema e Avaliação das Opções

Ana Lúcia Assad – Ministério da Ciência e Tecnologia
Deise M. F. Capalbo – Embrapa Meio Ambiente
Ednilza Pereira Farias Dias – Universidade Federal da Paraíba
Evelyn Underwood – Colégio Suíço de Tecnologia, Suíça
Jason de Oliveira Duarte – Embrapa Milho e Sorgo
José E. Miranda – Embrapa Algodão
Kristen C. Nelson – Universidade de Minnesota
Le Quag Quyen – Instituto de Pesquisa de Algodão, Vietnã
Lídio Coradin – Ministério do Meio Ambiente
Marcelo Fragomeni Simon – Embrapa Algodão
Maria José A. Sampaio – Embrapa – Secretaria de Propriedade Intelectual
Robério Ferreira dos Santos – Embrapa Algodão
Rubens Onofre Nodari – Ministério do Meio Ambiente
Silvio Valle – FIOCRUZ

Sessão II - Análise da estrutura e expressão de transgenes para eventos comerciais

Alexandre Nepomuceno – Embrapa Algodão
Dave Somers – Universidade de Minnesota – EUA
Eduardo Romano – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ellie Osir – Centro Internacional de Fisiologia e Ecologia de Pragas - ICIPE, Quênia
Maria Fátima G. de Sá – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Marlinda Lobo Pinheiro – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Nelson Amugune – Universidade de Nairobi, Quênia
Tran Thi Cuc Hoa – Instituto de Pesquisa de Arroz - Vietnã
Truong Nam Hai – Instituto de Biotecnologia - Vietnã
Wagner Alexandre Lucena – Embrapa Algodão

Sessão III

Polinizadores, Espécies Visitantes Florais e Espécies de Importância Cultural e Conservacionista

Carmen Pires – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Fernando A. Silveira – Universidade Federal de Minas Gerais
Hoang Ngoc Binh – Companhia Nacional de Algodão – Vietnã
Salvatore Arpaia – Agência Nacional Italiana para Novas Tecnologias, Energia e Meio Ambiente
Sonja Mayra Righelti – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente - IBAMA
Vera L. Imperatriz Fonseca – Universidade de São Paulo

Pragas não-alvo

Edison Sujii – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Gabor Loevei – Instituto Dinamarquês de Ciências Agrícolas, Dinamarca
Gaetan S.J. Dubois – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente - IBAMA
Mamoudou Setamou – Centro Internacional de Fisiologia e Ecologia de Insetos, Quênia
Marcos G. Fernandez – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
Pierre Silvie – Cirad - França/Brasil
Raul P. de Almeida – Embrapa Algodão

Predadores

Eliana M. G. Fontes – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Francisco Schmidt – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Jonathan Lundgren – Universidade de Illinois, EUA
Marcos Faria – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Nguyen van Tuat – Instituto de Proteção de Plantas - Vietnã
Odair Aparecido Fernandes, Universidade Estadual “Julio de Mesquita Filho” - UNESP/ Jaboticabal

Parasitoides

Angelo Pallini – Universidade Federal de Viçosa
 Francisco Ramalho – Embrapa Algodão
 Josephine Songa – Instituto de Pesquisa Agrícola / KARI - Quênia
 A. Nicholas E. Birch – Instituto de Pesquisa de Plantas Cultivadas, Escócia
 Rose Monnerat – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Plantas Invasoras

Francis Muyeko – Centro Internacional de Fisiología e Ecología de Insetos - Quênia
 Ricardo Carmona – Universidade de Brasília
 Robinson Pitelli – Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP / Jaboticabal

Efeitos sobre Organismos do Solo

Beatrice Anyango – Universidade de Nairobi - Quênia
 Itamar Soares Melo – Embrapa Meio Ambiente
 José Osvaldo Siqueira - Universidade Federal de Lavras
 Leda Cristina de Mendonça - Universidade Federal do Rio de Janeiro
 Pham Van Toan – Instituto de Ciências Agrícolas - Vietnã
 Maria Cléria Valadares Inglis – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
 Ron Wheatley - Instituto de Pesquisa de Plantas Cultivadas, Escócia
 Warton Monteiro – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente/ IBAMA

Sessão IV - Fluxo gênico e suas conseqüências

Ana Ciampi - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
 Carol Mallory-Smith – Universidade do Oregon - EUA
 Curt Brubaker – Comunidade de Saúde Científica e Industrial de Pesquisa - CSIRO - Austrália
 Flavio Gândara – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” / ESALQ – USP
 Francisco Aragão - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
 Luiz Paulo de Carvalho - Embrapa Algodão
 Milton Geraldo Fuzzato – Instituto Agronômico de Campinas
 Paulo Augusto Viana Barroso – Embrapa Algodão
 Paulo Kageyama - Universidade de São Paulo/ Ministério do Meio Ambiente
 Vânia Moda Cirino – Instituto Agronômico do Paraná
 Vu Duc Quang - Instituto de Genética Agrícola - Vietnã

Seção V - Evolução da Resistência e Manejo

Aline Holanda N. Maia – Embrapa Meio Ambiente
 Celso Omoto – ESALQ/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - USP
 Edvaldo Cia - Instituto Agronômico de Campinas - IAC
 Gary Fitt – Centro de Pesquisa e Cooperativa de Algodão - Austrália
 José Magid Waquil - Embrapa Milho e Sorgo
 Mathilda Okech – Centro Internacional de Fisiologia e Ecologia de Insetos - Quênia
 Mike Caprio – Universidade do Estado do Mississippi - EUA
 Nguyen Huu Huan - Departamento de Proteção de Plantas - Vietnã
 Tim Dennehy – Universidade do Arizona - EUA
 Zuleide Alves Ramiro - Instituto Biológico de São Paulo



Meio Ambiente

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

