

ANA LUÍSA ZANETTI

**FLUXO GÊNICO DE SOJA GENETICAMENTE MODIFICADA,  
EM SEMEADURAS DE VERÃO E DE INVERNO,  
COM ISOLAMENTOS DE SOJA OU MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia — Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora  
Profa. Dra. Denise Garcia de Santana

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

ANA LUÍSA ZANETTI

**FLUXO GÊNICO DE SOJA GENETICAMENTE MODIFICADA,  
EM SEMEADURAS DE VERÃO E DE INVERNO,  
COM ISOLAMENTOS DE SOJA OU MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,  
como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia — Mestrado, área de concentração em Fitotecnia,  
para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 22 de dezembro de 2010.

Prof. Dr. Carlos Machado dos Santos  
(co-orientador)

UFU

Prof. Dr. Neylson Eustáquio Arantes

FUNDAÇÃO TRIÂNGULO

Prof. Dr. Roberto Kazuhiko Zito

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO

Profa. Dra. Denise Garcia de Santana  
ICIAG-UFU  
(Orientadora)

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

*Aos meus pais, Antônio Erci e Ana Maria, com quem aprendi a escrever minha história. Aos meus filhos, Murilo e Felipe, a quem tento ensinar a escrever suas próprias histórias. Ao meu marido, Marco Túlio, com quem divido todos os aprendizados e ensinamentos.*

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, pelos dons da vida, da paciência e da persistência.

À minha família, meus pais, meu marido e filhos, irmãos, sobrinhos... enfim, todos que junto a mim souberam compartilhar e entender os momentos difíceis, os alegres e principalmente as ausências.

À Professora Doutora Denise Garcia de Santana, pela confiança em aceitar-me como orientada e pelos seus ensinamentos profissionais e pessoais.

Ao Professor Doutor Carlos Machado dos Santos, pelo auxílio no meu retorno a vida acadêmica e pelo apoio em todos os momentos. As lições de ética, profissionalismo, organização e respeito, sempre serão lembradas.

Ao Doutor Neylson Eustáquio Arantes, a quem ousou chamar de “mestre” e também à D. Joana d’Arc Arantes, pelo incentivo e carinho. Nem muitos anos, nas melhores escolas de agronomia, não me trariam as lições que tive o privilégio de aprender ao seu lado.

Ao Doutor Roberto Kazuhiko Zito, pelos quilômetros (milhares deles) de ensinamentos e amizade.

À Produtos Alimentícios Orlândia S/A - Sementes Brejeiro, pela doação das sementes de soja e execução dos testes de transgenia nas mesmas.

Ao Weider Santana e aos técnicos agrícolas da Fundação Triângulo – Flávio dos Santos Amaral, Robson Alves Pereira, Wender Espíndula Alves e Éberton de Carvalho, que muito me auxiliaram na condução dos trabalhos. Às funcionárias da Fundação Triângulo, em especial à Elaine Cristina de Almeida e à Gláucia Moura, sempre solícitas aos meus pedidos de ajuda.

Ao Adílio de Sá Júnior e à Sara Moraes Mendes de Almeida, pela ajuda inestimável nos trabalhos de laboratório e a todos estagiários que participaram.

Aos amigos que pude rever e aos outros que tive a oportunidade de conhecer.

À Maria Aparecida Fontoura e ao Eduardo Isaac Rodrigues, que sempre me auxiliaram, mesmo à distância.

Aos professores e funcionários do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG).

Enfim, mas não menos importante, à Fundação Triângulo de Pesquisa e Desenvolvimento, por me proporcionar essa oportunidade de crescimento profissional.

A todos, meu muito obrigada!

## SUMÁRIO

|                                                                                           | <b>Página</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| LISTA DE FIGURAS .....                                                                    | i             |
| LISTA DE TABELAS.....                                                                     | ii            |
| RESUMO.....                                                                               | iii           |
| ABSTRACT.....                                                                             | iv            |
| INTRODUÇÃO .....                                                                          | 1             |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....                                                              | 4             |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                 | 8             |
| 3.1 Experimentos, tratamentos e unidades experimentais.....                               | 8             |
| 3.2 Instalação e condução dos experimentos.....                                           | 9             |
| 3.3 Avaliações.....                                                                       | 12            |
| 3.3.1.Preparo das amostras de trabalho.....                                               | 12            |
| 3.3.2 Teste a campo.....                                                                  | 12            |
| 3.3.3 Bioensaio .....                                                                     | 14            |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....                                                            | 17            |
| 4.1 Teste a campo para detecção de plantas tolerantes ao glifosato<br>(transgênicas)..... | 17            |
| 4.2 Bioensaio .....                                                                       | 21            |
| CONCLUSÕES.....                                                                           | 25            |
| REFERÊNCIAS.....                                                                          | 26            |

## LISTA DE FIGURAS

| <b>FIGURA</b> |                                                                | <b>Página</b> |
|---------------|----------------------------------------------------------------|---------------|
| 1             | Esquema das unidades experimentais.....                        | 9             |
| 2             | Detalhe da operação de semeadura dos experimentos.....         | 10            |
| 3             | Vista da área do teste a campo em Uberaba.....                 | 13            |
| 4             | Aparência de uma plântula de soja.....                         | 15            |
| 5             | Teste individual de plântulas de soja da cultivar “Conquista”. | 16            |
| 6             | Curva de probabilidade e a dispersão dos dados.....            | 19            |
| 7             | Dispersão dos dados de probabilidade de contaminação.....      | 19            |
| 8             | Curva de probabilidade e a dispersão dos dados.....            | 20            |
| 9             | Curva de probabilidade e a dispersão dos dados .....           | 21            |
| 10            | Dispersão dos dados de probabilidade .....                     | 24            |

## LISTA DE TABELAS

| TABELA |                                                                                                                                                                                                                                                                   | Página |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1      | População de plantas convencionais, transgênicas e frequência por unidade experimental, obtidas nos experimentos conduzidos no verão e no inverno com isolamento de soja e milho em diferentes distâncias da fonte do pólen com transgene. Uberlândia – MG, 2010. | 17     |
| 2      | Limites máximos de plantas transgênicas na avaliação a campo, obtidos pelo <i>SeedCalc</i> nos experimentos com semeadura de verão e inverno e nas diferentes distâncias avaliadas – Uberlândia – MG, 2010.                                                       | 18     |
| 3      | Número de plântulas normais (transgênicas RR), anormais (convencionais) e frequência, obtidos nos bioensaios. Uberlândia – MG, 2010.                                                                                                                              | 22     |
| 4      | Limites máximos de plântulas transgênicas no bioensaio, obtidos pelo <i>SeedCalc</i> nos experimentos com semeadura de verão e inverno e nas diferentes distâncias avaliadas – Uberlândia – MG, 2010.                                                             | 23     |

## RESUMO

ZANETTI, Ana Luísa. **Fluxo gênico de soja geneticamente modificada, em semeaduras de verão e de inverno, com isolamentos de soja ou milho.** 2010. 28f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) — Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia.<sup>1</sup>

A soja geneticamente modificada, tolerante ao glifosato, ampliou sua área de cultivo em poucos anos, tornando-se hoje a mais semeada no país. As vantagens da sua utilização são várias frente à soja convencional, o que tem levado os sojicultores a preferi-la. Entretanto, como alguns mercados ainda mostram preferência pela soja não transgênica e sua produção ocorre em áreas menores, há necessidade de se suprir o mercado com sementes convencionais com alta qualidade genética. A contaminação de lotes de sementes convencionais por transgênicas tem ocorrido com alta frequência, em várias etapas da cadeia de produção. Uma das possibilidades é a contaminação via cruzamento natural entre plantas convencionais e transgênicas, em campos de produção de sementes. Diante desta realidade, o trabalho objetivou avaliar a eficiência da utilização de barreiras de isolamento com plantas de soja e de milho, bem como o fluxo gênico de uma cultivar transgênica para uma convencional, em cultivos de verão e de inverno. Foi utilizada a cultivar convencional MG/BR 46 [Conquista] e a transgênica BRS Valiosa RR. Os experimentos de campo constaram da combinação da utilização de dois tipos de isolamento físico (soja e milho) com duas épocas de semeadura (verão e inverno), totalizando quatro experimentos. Eles foram conduzidos na Fazenda Experimental Getúlio Vargas, da EPAMIG, em Uberaba, MG e os de inverno na Fazenda Suçuarana, em São Romão, MG. Os ensaios a campo caracterizaram-se pela semeadura formando um quadrado de 6,5 m de lado com a cultivar transgênica, isolada por todos os lados por 3 m cultivados com plantas de milho ou da própria soja convencional, e ladeados por 8 m de soja convencional. A unidade experimental constou de uma fileira de 6,5 m da cultivar convencional, nas distâncias de 0,5; 1, 2, 4, 6 e 8 m, contados a partir da última linha do isolamento. Das sementes colhidas, 200 g de cada unidade experimental foram utilizados para bioensaio de detecção de soja transgênica no Laboratório de Ensino de Sementes do ICIAG da UFU e o restante foi semeado no campo. Antes do florescimento, as plantas foram dessecadas com glifosato, na dose de 1080g de equivalente ácido (ea) por hectare. As transgênicas remanescentes foram contadas e foi calculada sua frequência. Para o bioensaio, as sementes foram pré-embebidas em solução de glifosato (0,6% ea), por 16 horas antes do teste de germinação e avaliadas ao 5º dia, determinado-se a frequência de plântulas normais e anormais. Concluiu-se que: a) a frequência de plantas transgênicas foi mais alta nas semeaduras de inverno que de verão, independentemente da barreira utilizada; b) o fluxo gênico reduziu com o aumento na distância em todos os experimentos; c) a distância de 11 m não foi suficiente para evitar o fluxo gênico e, d) o bioensaio não foi eficiente na quantificação do fluxo gênico.

**Palavras-chave:** contaminação genética, transgenia, bioensaio, *Glycine max*

---

<sup>1</sup> Orientadora: Denise Garcia de Santana — UFU.

## ABSTRACT

ZANETTI, Ana Luísa. **Gene flow of genetically modified soybeans, in summer and winter sowings, with isolations of soybean or maize.** 2010. 28 f. Dissertation (Master's degree in Agronomy/Plant Science) — Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) of Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia.<sup>1</sup>

Genetically modified soybean, tolerant to glyphosate, expanded its growing area in few years becoming the most sown in the country. The advantages of its use are many compared to the conventional soybean, which has led soybean farmers to prefer it. However, since some markets still prefer conventional soybean and its production occurs in smaller areas, there is the need to supply the market with high genetic quality seeds. The contamination of conventional seed lots with transgenic seeds has occurred with high frequency, in many stages of the production chain. One of the possibilities is the contamination by natural crossing between conventional plants and transgenic ones, in seed production fields. Therefore, this study evaluated the efficacy of the use of isolation barriers with soybean and maize plants, as well as gene flow of a transgenic cultivar to a conventional one, in summer and winter crops. The cultivars used were conventional MG/BR 46 [Conquista] and transgenic BRS Valiosa RR. The field experiments consisted of the combination of the use of two kinds of physical isolation (soybeans or maize) with two sowing dates (summer and winter), in a total of four experiments. The summer experiments were done at Getúlio Vargas Experimental Farm, of EPAMIG, in Uberaba, MG, and the winter ones at Suçuarana Farm, in São Romão, MG. The field trials were characterized by sowing a 6.5-m-sided square with the transgenic cultivar, isolated on all sides by 3 m cultivated with maize plants or the conventional soybean, and sided by 8 m of conventional soybeans. The experimental unit consisted of a 6.5 m long row of the conventional cultivar, at distances of 0.5, 1, 2, 4, 6 and 8 meters, counted from the last isolation line. The seeds were harvested, and 200 g of each experimental unit were used for transgenic soybean detection bioassay at the Laboratório de Ensino de Sementes of ICIAG, UFU, while the remainder was sown in the field. Before flowering, the plants were desiccated with Roundup (Glyphosate – 3 L ha<sup>-1</sup>). The surviving transgenic plants were counted and their frequency calculated. For the bioassay, the seeds were pre-soaked in a glyphosate solution (0.6% e.a.) for 16 hours before the germination test and evaluated on the 5<sup>th</sup> day, determining the frequency of normal and abnormal seedlings. It was concluded that: a) the frequency of transgenic plants was greater in winter sowings than in the summer, regardless of the barrier used; b) the gene flow was reduced with increase distance in all of the experiments; c) the 11 m distance was not sufficient to avoid gene flow, and, d) the bioassay was not effective in quantifying the gene flow.

**Keywords:** genetic contamination, transgenic, bioassay, *Glycine max*.

---

<sup>1</sup> Supervisor: Denise Garcia de Santana — UFU.

## 1 INTRODUÇÃO

Com a aprovação no Brasil da soja geneticamente modificada, tolerante ao glifosato, designada Roundup Ready (RR), o manejo das plantas infestantes foi rapidamente adaptado à nova tecnologia. Os sojicultores assim o fizeram, devido às facilidades, aliada à eficiência com um custo equivalente ou até mesmo inferior. Assim, o uso de cultivares convencionais diminuiu em detrimento das transgênicas RR.

A rapidez com que as áreas cultivadas com soja RR se expandia indicava que, em poucos anos, quase a totalidade da área de soja do país estaria sendo semeada com cultivares RR. Tal fato se tornou realidade, como se imaginava, após cinco anos do lançamento das primeiras cultivares RR. Segundo Schioschet e Paula (2008), a soja transgênica com o gene da tolerância ao glifosato foi liberada para plantio e comercialização no país a partir da Lei de Biossegurança nº 11.105 de 24 de março de 2005. De acordo com dados de Galvão (2010), na safra 2008/2009, do total dos 21,7 milhões de ha cultivados com soja, apenas 6,4 milhões, ou seja 29,3%, foram cultivados com soja convencional, reduzindo a oferta desse produto.

A demanda pelo grão de soja convencional (não transgênica) vem da indústria alimentícia interna e de mercados externos, principalmente a Europa. Como há escassez de oferta, os compradores estão pagando um bônus, o que vem atraindo a atenção dos sojicultores para esse nicho de mercado. Entretanto, a dificuldade em se obter lotes de grãos de soja convencional sem contaminação por transgênicos é cada vez maior, já que esse mercado é muito exigente com relação à sua pureza genética.

No mercado interno, a Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, prevê, em seu artigo 40, que os alimentos e ingredientes alimentares que contenham ou sejam produzidos a partir de Organismos Geneticamente Modificados (OGM) deverão conter informação, nesse sentido, em seus rótulos. A Lei foi regulamentada pelo decreto nº 5.591 de 22 de novembro de 2005, que faz, em seu capítulo 91, a mesma consideração da Lei. O texto que cita que “na comercialização de alimentos e ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados, com presença acima do limite de um por cento do produto, o consumidor deverá ser informado da natureza transgênica desse produto”, é o decreto 4.680, de 24 de Abril de 2003, editado antes da Lei de Biossegurança. Como nem a referida Lei, nem seu Regulamento citam ou revogam o decreto 4.680, há uma dúvida interpretação nesse sentido: alguns entendem

que produtos com menos de um por cento de OGM não precisam da informação no rótulo, enquanto outros interpretam que o consumidor está sendo lesado com a falta da informação.

No Brasil, a rotulagem informando ao consumidor a presença de OGM nos alimentos tem seguido o limite de 1% pelas indústrias e pelo comércio. Na Europa, a rotulagem é necessária acima de 0,9% de presença de transgênicos. Já o mercado dos EUA não faz distinção com relação à transgenia. Apesar dos limites para rotulagem, há interesse, por parte do mercado externo, por lotes de soja livres de OGM, sendo que contratos são fechados com limites variando de 0,1 a 0,9% de transgênicos (informação verbal)<sup>1</sup>.

A produção de sementes de soja livres de sementes de outras cultivares ou dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente é facilitada pelo fato da soja ser uma espécie autógama com cleistogamia, que proporciona uma baixa taxa de cruzamento natural. No caso específico das cultivares modificadas geneticamente, a baixa taxa de fecundação cruzada que ainda pode existir é um dos pontos críticos de contaminação genética dos campos de sementes convencionais por transgênicos.

Considerando ainda que existem outras etapas na cadeia de produção de sementes de soja, em que pode ocorrer contaminação varietal por meios mecânicos, e ainda que os testes utilizados são altamente sensíveis quanto à detecção da presença de OGM, o processo de produção, principalmente das sementes, terá que ser reestruturado, visando impedir contaminações, haja visto que, além do gene RR, outros eventos estão sendo incorporados às cultivares de soja convencionais.

Se há possibilidade de cruzamento natural, ainda que em baixos níveis, irá ocorrer o fluxo gênico, também denominado escape gênico ou dispersão gênica, que segundo Borém (2005) pode ser entendido, no contexto de biossegurança, como a transferência de alelos de uma população/espécie para outra, com a permanência do gene exógeno na população receptora nas gerações seguintes à transferência. Tal situação está exigindo dos produtores maior controle do seu processo, tanto de produção de semente, quanto de grãos de soja convencional.

Diante desta realidade, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência das linhas de plantas de milho e de soja utilizadas para o isolamento de campos de produção

---

<sup>1</sup> Comunicação de Ivan Paghi, diretor técnico da Associação Brasileira de Produtores de Grãos Não Geneticamente Modificados – ABRANGE, 2010.

de sementes de soja, bem como o fluxo gênico de uma cultivar transgênica para convencional, em cultivos de verão e inverno.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A taxa de crescimento global das lavouras biotecnológicas entre 1996 e 2008 foi de 74 vezes, um aumento sem precedentes e que a torna a mais rápida tecnologia adotada na história recente. O Brasil hoje é o terceiro país do mundo em área com produtos biotecnológicos, totalizando 15,8 milhões de hectares, divididos entre as três culturas com eventos transgênicos já liberados no Brasil: soja, milho e algodão (JAMES, 2008).

Autores como Siqueira e colaboradores (2004) e Valois (2001) apontam diversos benefícios no uso da biotecnologia nas culturas, que ajudam a explicar a rápida adoção dessa tecnologia pelos agricultores, dentre eles: aumento da produtividade em função do melhor controle de plantas infestantes; eficiência de controle e flexibilidade no manejo de invasoras; menor custo por facilitar a adoção do plantio direto e do cultivo mínimo e produção mais estável, com desenvolvimento de cultivares tolerantes a estresses bióticos e abióticos.

De acordo com Vidal e outros (2006) e Gazziero (2005), frente às dificuldades e à pouca oferta, algumas considerações são necessárias acerca da utilização dessa nova tecnologia. No caso da soja tolerante ao glifosato, já comercializada no Brasil, a recomendação técnica é que seja feita uma rotação entre cultivares transgênicas geneticamente modificadas (GM) e convencionais, visando retardar e/ou minimizar o surgimento de espécies invasoras tolerantes. Outras medidas seriam: rotação dos princípios ativos utilizados e a adoção de técnicas de manejo e de produtos durante a entressafra da soja. Essas práticas, associadas à grande taxa de crescimento das lavouras de soja transgênicas, estão limitando a possibilidade de se produzir soja convencional.

Certos nichos de mercado, principalmente internacional, têm proporcionado vantagens econômicas aos produtores de grãos convencionais. Entretanto, para se obter o produto livre de contaminação, como exigido pelos mercados compradores, os cuidados relativos aos campos para produção de sementes devem ser redobrados. De acordo com Lopes e outros (2009), a contaminação de lotes de sementes ou grãos convencionais por GM pode ocorrer nas várias etapas da produção: na semeadura, com a troca de lotes de sementes convencionais por transgênicas ou pela utilização de semeadoras contendo restos de sementes de cultivares GM; durante o florescimento da lavoura, devido à polinização cruzada com lavouras adjacentes às GM; e no momento da colheita e transporte, devido à utilização sem a devida limpeza prévia.

Embora a soja seja uma espécie autógama com baixa taxa natural de fecundação cruzada, geralmente inferior a 1%, eventualmente pode ter elevação devido à variações nas condições ambientais (BORÉM, 1998). Por esse motivo, Schuster e colaboradores (2007) destacam a necessidade de estudos regionais e com cultivares diferentes, a fim de fornecer subsídios aos produtores e às agências certificadoras para determinar isolamentos adequados que impeçam a contaminação, via pólen, de lavouras convencionais por lavouras com plantas transgênicas. Pereira e outros (2007) reforçam a importância desse tipo de estudo, destacando que a possibilidade de ocorrência de fluxo gênico, de uma cultivar GM para uma convencional, e a possibilidade de se detectarem sementes de soja tolerantes ao glifosato em mistura com soja convencional, são assuntos relevantes com a expansão do cultivo de cultivares GM.

Segundo Borém (2005), para que o fluxo gênico entre dois biótipos ocorra, eles devem compartilhar o mesmo *habitat* e deve existir sobreposição do período de florescimento deles. Neste caso, a ocorrência da polinização cruzada dependerá da existência de um agente polinizador eficiente. Se as espécies forem geneticamente compatíveis e houver a fecundação cruzada com a formação de um híbrido viável, o fluxo gênico poderá se estabelecer se o gene transferido não resultar em menor competitividade para o biótipo receptor, bem como não ocorrer a eliminação do gene exótico nas gerações seguintes.

Ray e outros (2003) evidenciaram o potencial da cultura da soja para o fluxo de transgenes, trabalhando com duas cultivares de soja com cor de flor branca e roxa, encontrando taxa de fecundação cruzada natural variando de 0,65 a 6,32%.

Abud e colaboradores, em 2003, estudaram a frequência de disseminação de pólen transgênico da soja (genes *AHAS* para tolerância ao herbicida imazapyr e o gene *uidA* (GUS)) e constataram que a maior quantidade de disseminação (0,45% de polinização cruzada) foi observada na linha distante 0,5 m da parcela que continha as plantas transgênicas, e que essa frequência reduziu-se drasticamente a partir de 1,0 m de distância desta parcela, até não mais ser detectada à 6,5 m do bloco central. Neste estudo, os autores relatam ainda que ocorreram populações de insetos não monitoradas, com presença de *Apis mellifera* e *Trigona spinipes* (Apidae), e que a quantidade de inseticida aplicada durante o período de florescimento foi menor do que a normalmente aplicada nas condições brasileiras, o que pode ter contribuído no aumento da população desses polinizadores e também da fecundação cruzada.

Chiari e outros (2005) avaliaram a polinização por abelhas *Apis mellifera* na produção e qualidade das sementes de soja, na região de Maringá – PR, e concluíram que as abelhas foram eficientes no trabalho de polinização da soja, proporcionando aumento na produção de grãos. A necessidade de manutenção de fragmentos de matas naturais nas propriedades agrícolas para manter os polinizadores, seria um seguro para maiores produções agrícolas, como ressaltam Imperatriz-Fonseca e Nunes-Silva (2010). Segundo tais autoras, uma revisão mostra que, mesmo para espécies autógamas, há um aumento considerável na produção, se a cultura tiver a visita de abelhas polinizadoras. Hoffmann (1990), utilizando metodologia de parcelas abertas e cobertas na região de Viamão – RS, obteve aumento nas produtividades, nas parcelas abertas, para as culturas de girassol, feijão e colza. Ahrent e Caviness (1994) estudaram 12 cultivares de soja de grupos de maturidade diferentes, utilizando marcadores como cor de flor, cor de pubescência e número de folíolos em ambientes naturais, com presença de *A. mellifera* e outras populações de abelhas, e concluíram que ocorreu diferença significativa na taxa de fecundação cruzada entre as cultivares. Fujita e colaboradores (1997) estudaram características ecológicas, reprodutivas e demográficas em populações selvagens do gênero *Glycine* no leste da Ásia e no Japão, examinando o grau de polinização cruzada natural e realizando observações de campo dos potenciais polinizadores. A taxa de cruzamento natural variou de 9,3 a 19% entre as quatro populações, sendo observadas freqüentes visitas de abelhas e mamangavas nas flores, demonstrando uma variação genética considerável e provas de cruzamento natural. Trabalho realizado em Londrina, na safra 2003/04, indicou uma influência positiva na produtividade das cultivares de soja BRS 133 e BRS 245RR, eficientemente polinizadas por abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) (CHIARI et al., 2008). Os autores relatam que a eficiência de polinização deve levar em conta as diferenças entre as cultivares e as condições ambientais e alertam que esta eficiência é um aspecto preocupante quando possibilita o fluxo gênico entre exemplares transgênicos e convencionais.

Silva e outros (2007) afirmam que escape gênico, via pólen, apresenta grande dificuldade de controle em plantas sexualmente compatíveis. Baseados em uma revisão bibliográfica, porém, os autores mostram que o risco do escape pode ser diminuído ou evitado com estratégias como isolamento geográfico, metodologias moleculares e ainda a utilização de bionanotecnologias. Trabalhos com espécies florestais mostram a eficiência das barreiras físicas em condições naturais e específicas, como forma de diminuir o fluxo alélico entre subpopulações de uma espécie (JAEGER et al., 2007). No

caso da cultura do mamão, Jesus-Hitzschky; Cremonezi e Lima (2007) mostraram que, para evitar o fluxo gênico de plantas transgênicas quanto à possibilidade de polinização cruzada, as flores abertas são retiradas das plantas como medida restritiva, mantendo a baixa probabilidade de polinização cruzada natural.

Culturas comerciais como algodão, espécie com sistema reprodutivo considerado misto ou parcialmente autógamo (CRISÓSTOMO, apud VIDAL NETO; FREIRE, 2009) devido à ocorrência simultânea de autofecundação e cruzamento natural de origem entomófila, podem utilizar uma barreira de milho e/ou uma bordadura de algodão, de cerca de 15 metros, como método de contenção eficientes (BARROSO et al., 2005) para manter a pureza genética de campos comerciais e de produção de sementes.

Na região oeste do Paraná, Schuster e outros (2007), trabalhando com as cultivares CD 219RR e CD 211, concluíram que não há necessidade de medidas especiais de isolamento para obtenção de soja com menos de 1% de contaminação e recomendam o isolamento de 8 metros entre lavouras para uma produção de soja livre de grãos geneticamente modificados.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas neste estudo as cultivares de soja BRS Valiosa RR (transgênica) e MG/BR 46 [Conquista], sendo esta convencional, por possuírem mesmo ciclo e características semelhantes, visto que a ‘Valiosa RR’ foi obtida por retrocruzamentos, tendo a ‘Conquista’ como cultivar recorrente. Amostras da cultivar convencional foram submetidas à avaliação qualitativa através de *Kit* para *Roundup Ready* (tiras de fluxo lateral que detectam a proteína CP4EPSPS – *Strip Test*) para detecção de OGM em soja, realizado pelo Laboratório de Controle da empresa Produtos Alimentícios Orlândia S/A - Sementes Brejeiro, sendo confirmada a ausência de sementes transgênicas.

#### 3.1 Experimentos, tratamentos e unidades experimentais

Os experimentos de campo constaram da combinação da utilização de dois tipos de isolamento físico (soja e milho) com duas épocas de semeadura (verão e inverno), totalizando quatro experimentos.

Conforme ilustrado na Figura 1, cada unidade de teste foi constituída por 13 fileiras da cultivar transgênica BRS Valiosa RR, isoladas com plantas de soja ou milho por todos os lados. A largura da área de isolamento foi determinada com base na Instrução Normativa (IN) 25, de 16/12/2005, que prevê um mínimo de três metros para isolamento ou bordadura como padrão para produção e comercialização de sementes de soja, independente da categoria. A cultivar convencional, MG/BR 46 [Conquista], foi semeada adjacente ao isolamento, com 16 linhas espaçadas de 50cm, perfazendo 8m. O modelo de distribuição das unidades de teste utilizado foi definido tomando-se como referência o empregado e um dos previstos por Borém (2005). As unidades de teste foram repetidas quatro vezes.

A unidade experimental foi constituída por duas fileiras de 6,5 metros da cultivar ‘Conquista’ (Figura 1 – B), sendo uma de cada lado, nas distâncias 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0m, após a última linha do isolamento (Figura 1 - A).

Na obtenção dos dados, foram consideradas independentemente das repetições, a soma de todas as unidades de teste.

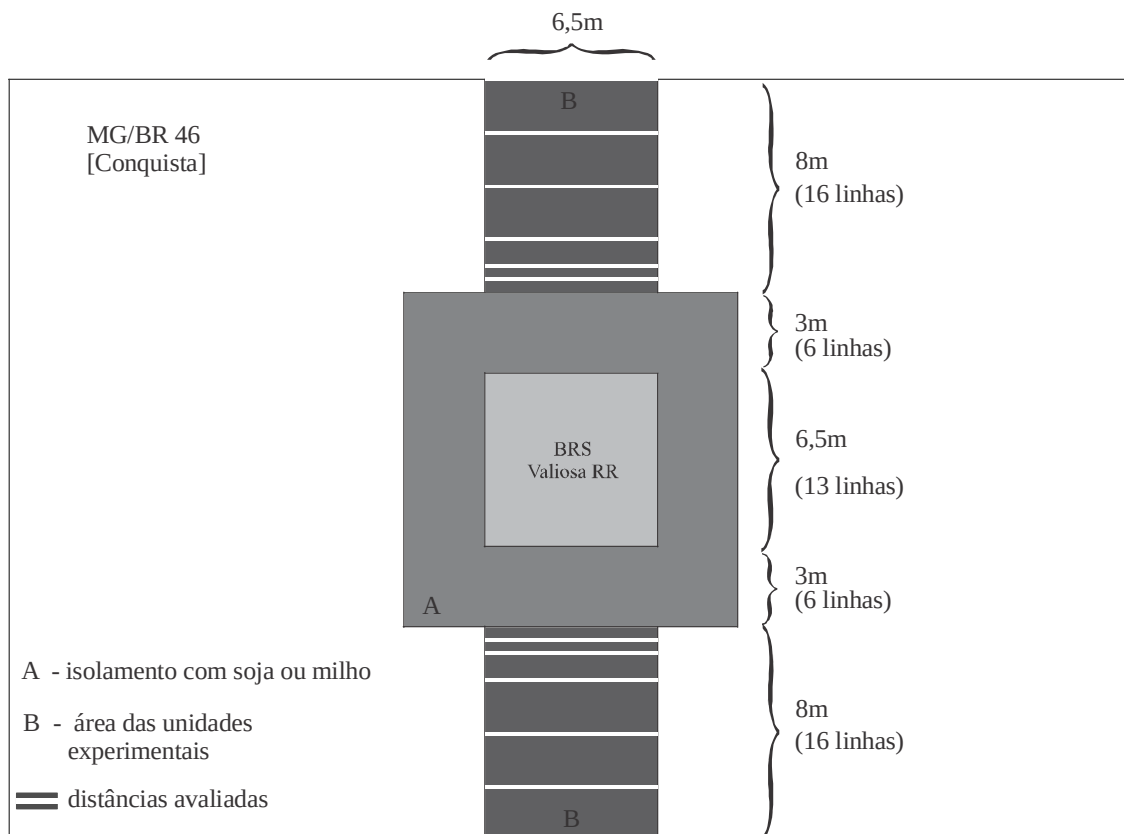


FIGURA 1 - Esquema das unidades experimentais, ilustrando a distribuição da área com soja transgênica, em relação à com soja convencional, bem como a faixa de isolamento.

### 3.2 Instalação e condução dos experimentos

Os experimentos com semeadura programada para o verão foram instalados na Fazenda Experimental Getúlio Vargas (19°44'54"S; 47°55'55"O), da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, EPAMIG, no dia 18/12/2008, em Uberaba, MG. Os de semeadura no inverno foram instalados na Fazenda Suçuarana (16°22'07"S; 45°04'10"O) no dia 20/05/2009, em São Romão, MG.

Nos dois locais, a semeadura da cultivar transgênica e da convencional foi no mesmo dia, o que possibilitou o florescimento simultâneo, necessário a este tipo de estudo.

A semeadura foi feita em sistema de plantio direto sobre palhada de braquiária não cultivada (área de pousio), em Uberaba, e sobre palhada de milho, em São Romão, utilizando-se semeadoras hidráulicas com quatro linhas adaptada para parcelas experimentais (Figura 2).



A



B

FIGURA 2 - Detalhe da operação de semeadura dos experimentos de verão na Fazenda Experimental Getúlio Vargas, em Uberaba – MG (A) e de inverno na Fazenda Suçuarana, em São Romão – MG (B)

A adubação utilizada na semeadura, em Uberaba, foi de 320 kg.ha<sup>-1</sup> da fórmula 03-30-15 e, em São Romão, 280 kg.ha<sup>-1</sup> de 06-34-09, sendo distribuídas para a soja, nos dois locais, 15 sementes por metro, no espaçamento de 50 cm entre linhas. No verão, o milho foi semeado dia 30 de dezembro de 2008, quando a soja se encontrava no estágio V<sub>2</sub>, com equipamento manual (matraca), em sulcos já abertos e adubados pela semeadora da soja. No inverno, o milho foi semeado no mesmo dia da semeadura da soja. Foi utilizado o híbrido simples P30K73, distribuindo duas sementes por cova, com posterior desbaste, visando obter uma população final de 60.000 plantas.ha<sup>-1</sup>.

Os tratos culturais seguiram as recomendações para a cultura da soja (EMBRAPA, 2010) e do milho (EMBRAPA MILHO E SORGO, 2008). As aplicações de herbicidas foram feitas com equipamento de pulverização costal, utilizando barreira de lona plástica para proteção das plantas de milho ou de soja. Nos dois locais, o controle de invasoras na soja foi feito com os herbicidas clorimurómetil – 10g i.a. ha<sup>-1</sup> mais lactofen – 120g i.a. ha<sup>-1</sup>, tanto para soja convencional, como para a soja transgênica. O controle de invasoras no milho foi feito apenas em São Romão, utilizando tembotriona – 100,8g i.a. ha<sup>-1</sup> e o adjuvante éster metílico de óleo de soja – 720g i.a. ha<sup>-1</sup>. Em ambos locais, foram realizadas, manualmente, duas aplicações de nitrogênio em cobertura, com 220kg.ha<sup>-1</sup> de uréia, para a cultura do milho. Os experimentos do inverno foram irrigados via pivô central.

A colheita foi realizada manualmente, sendo colhidas as linhas correspondentes às unidades experimentais nos dias 24/04/09 e 19/09/09 dos experimentos de verão e inverno, respectivamente.

Após colhidas, as plantas foram trilhadas e as sementes submetidas à pré-limpeza em uma trilhadeira de parcelas.

As sementes foram acondicionadas em sacos de papel Kraft, devidamente identificados e armazenados em condições ambiente, na unidade de soja convencional do Programa de Melhoramento Genético de Soja (PMGS), na Fazenda Experimental Getúlio Vargas em Uberaba, até a realização das avaliações.

### 3.3 Avaliações

#### 3.3.1 Preparo das amostras de trabalho

Utilizando um divisor de amostras modelo Jhones, as amostras das sementes foram homogeneizadas, divididas em duas, acondicionadas em sacos de papel Kraft e armazenadas em câmara fria, a  $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de 60%, no laboratório de pesquisa de sementes do Instituto de Ciências Agrárias – ICIAG, da Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Foram preparadas duas amostras de trabalho, sendo uma destinada ao teste a campo e outra ao bioensaio.

#### 3.3.2 Teste a campo

O teste a campo foi realizado na Fazenda Experimental da EPAMIG, em Uberaba, com semeadura em 29 de dezembro de 2009. As 192 unidades experimentais foram semeadas, sequencialmente, em blocos de quatro linhas, espaçadas de 50 cm e com comprimento variando em função da quantidade de sementes obtida naquela unidade experimental. A população planejada por metro foi de 25 plantas, que, embora seja alta para a cultivar em questão, foi utilizada para reduzir a área necessária para fazer o teste. Antes da dessecação, a população de cada unidade experimental foi determinada com a contagem aleatória de 8 amostras de 1m de comprimento. No dia 9 de fevereiro de 2010, foi realizada a dessecação da área, utilizando glifosato, na dose de 1080g e.a. ha<sup>-1</sup>. No dia 18 de fevereiro, fez-se uma segunda dessecação, utilizando o mesmo produto e dosagem. No dia 10 de março de 2010, as plantas remanescentes e resistentes ao glifosato foram contadas e anotadas (Figura 3).

Com os dados obtidos, foram calculadas as frequências de ocorrência de plantas transgênicas pela fórmula:

$$\text{Frequência} = (T*100)/(C+T)$$

Em que:

T = número de plantas transgênicas

C = número de plantas convencionais



FIGURA3 – Vista da área do teste a campo em Uberaba, no dia 09/02/2010, em que foi realizada a primeira aplicação do glifosato (A), e no dia 18/02/2010, em que foi realizada a segunda aplicação de glifosato (B).

Com os dados também foram calculados os limites máximos de plantas transgênicas pelo *SeedCalc* 8.0, programa estatístico desenvolvido pela *International Seed Testing Association* (ISTA). O *SeedCalc* transforma testes de resultados qualitativos em quantitativos, informando, em percentagem, a presença de semente adventícia, ao nível de 95% de probabilidade (PESK; TILLMANN, 2010). Este programa foi utilizado também por levar em consideração o número de sementes que difere entre as unidades experimentais no presente trabalho.

Para o estudo da relação da probabilidade de contaminação e das distâncias avaliadas em relação às barreiras, modelos lineares e não lineares de regressão, foram ajustados, com auxílio do programa SPSS 16.0, testados pela estatística F, de Snedecor (1967), e verificada a qualidade do ajuste a partir do coeficiente de determinação. Os modelos permitiram fazer estimativas da probabilidade de contaminação até a 8m a partir da última linha do isolamento.

### **3.3.3 Bioensaio**

O bioensaio foi conduzido no laboratório de pesquisa de sementes do ICIAG – UFU. A quantidade de sementes retirada de cada parcela e destinada ao bioensaio foi de 200g, exceto quando a quantidade total da amostra era menor que 300g, quando então as amostras foram divididas em duas.

Inicialmente, 200 sementes de cada unidade experimental foram colocadas para embeber por 16 horas no escuro, envoltas em duas folhas de papel germitest, umedecidas com uma solução de glifosato (0,6% e.a.), cujo volume em mililitros corresponde a 2,5 vezes o peso do papel seco, em gramas. Depois, as sementes foram colocadas para germinar, conforme metodologia prescrita para teste de germinação – Regras para Análises de Sementes - RAS (BRASIL, 2009), e colocadas em germinador, a  $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ , durante 5 dias, para avaliação. Ao final do teste, as plântulas foram classificadas em normais e anormais, segundo metodologia descrita por Tillmann e West (2004) (Figura 4).

As plântulas que se apresentam normais, após o teste nas condições descritas anteriormente, são tolerantes ao glifosato, enquanto que as anormais são convencionais (TILLMANN; WEST, 2004). Durante a classificação das plântulas, quando surgiram dúvidas quanto à normalidade ou não, as plântulas eram testadas individualmente, utilizando o *Strip Test* (Figura 5).

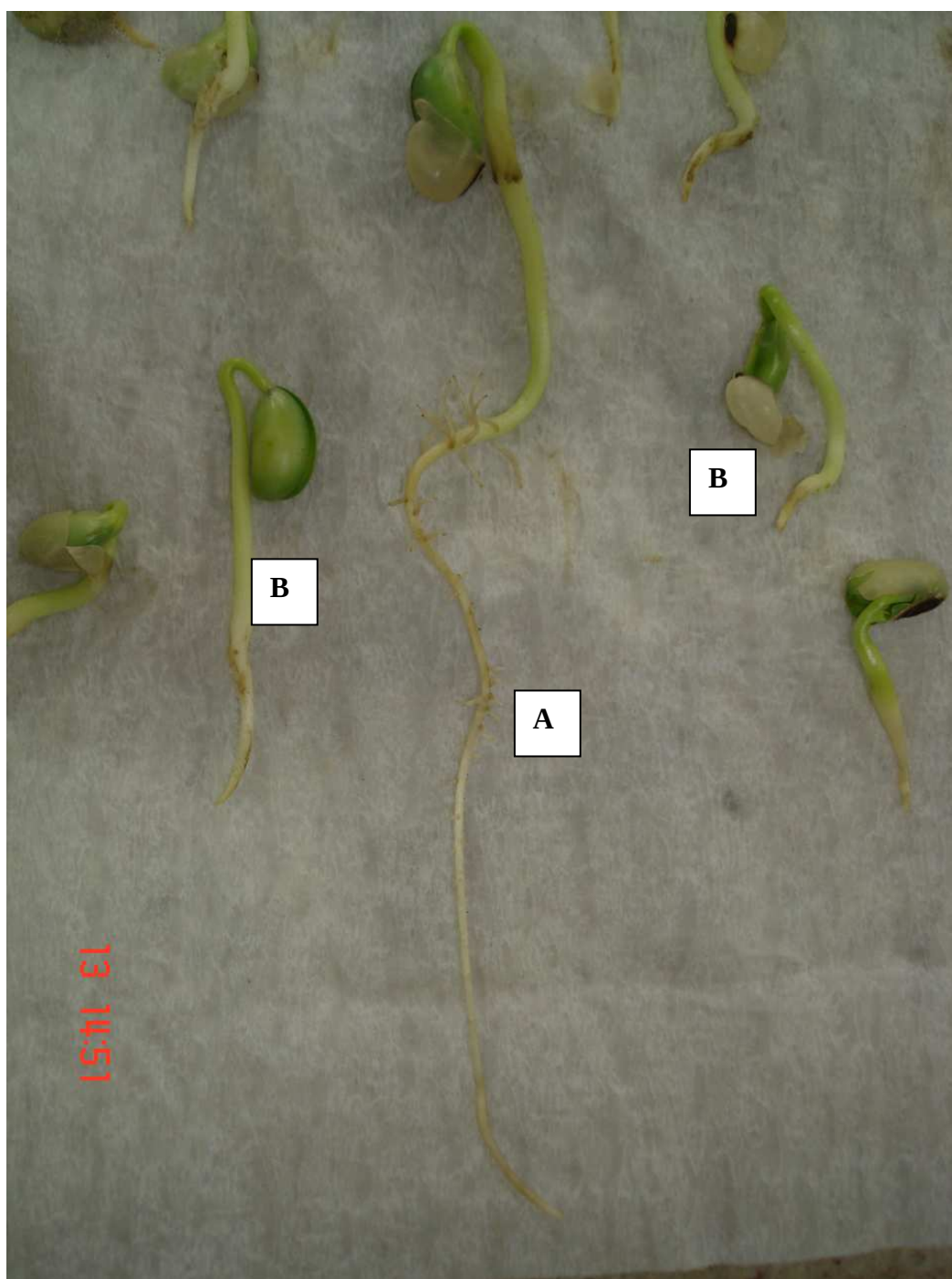


FIGURA 4 – Aparência de uma plântula de soja transgênica classificada como normal (A) e outras convencionais com desenvolvimento anormal (B).

Da mesma forma que realizado no experimento a campo, foi utilizado o número de plântulas normais e anormais para calcular a frequência, onde as plantas normais são as transgênicas e anormais as convencionais. Também foram calculados os limites

máximos de plântulas transgênicas, pelo *SeedCalc* 8.0, informando a presença de semente adventícia, ao nível de 95% de probabilidade.

Também foram ajustados modelos lineares e não lineares de regressão para estudo da relação da probabilidade de contaminação e das distâncias com os isolamentos de soja e milho, testados pela estatística F, de Snedecor (1967) e determinada a qualidade do ajuste a partir do coeficiente de determinação.

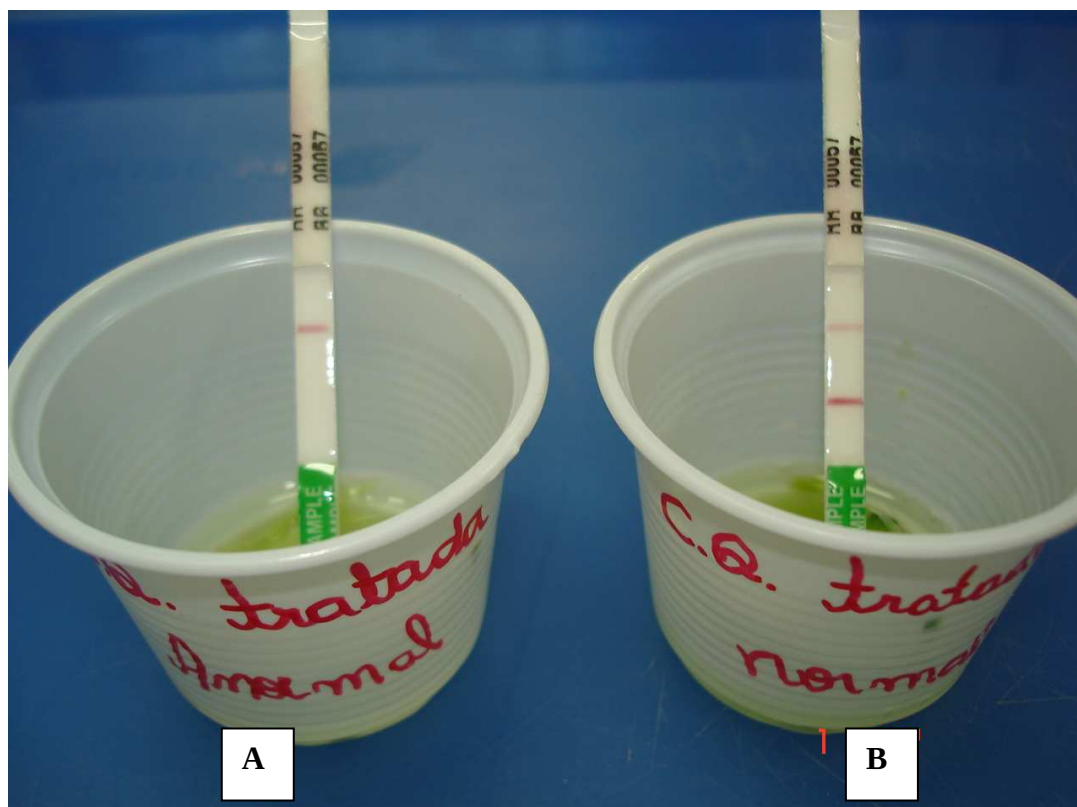


Figura 5 – Teste individual de plântulas de soja da cultivar “Conquista”, apresentando resultado negativo (plântula anormal convencional – A) e outra com resultado positivo (plântula normal e transgênica – B), para o *Strip test*.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Teste a campo para detecção de plantas tolerantes ao glifosato (transgênicas)

Na Tabela 1, são apresentados os dados referentes à frequência de plantas transgênicas (em porcentagem), obtidos no teste em campo com as amostras das unidades experimentais, oriundas dos experimentos conduzidos no verão e no inverno, em diferentes distâncias após o isolamento.

TABELA 1 – Frequência de plantas transgênicas (%), por unidade experimental, obtida nos experimentos conduzidos no verão e no inverno com isolamento de soja e milho, em diferentes distâncias da fonte do pólen com transgene. Uberlândia – MG, 2010.

| Distância da fonte de pólen com transgene (m) | Semeadura no verão                |                                  | Semeadura no inverno              |                                  |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
|                                               | Isolamento com milho <sup>1</sup> | Isolamento com soja <sup>1</sup> | Isolamento com milho <sup>1</sup> | Isolamento com soja <sup>1</sup> |
| 3,5                                           | 0,040                             | 0,016                            | 0,159                             | 0,094                            |
| 4                                             | 0,020                             | 0,010                            | 0,189                             | 0,109                            |
| 5                                             | 0,008                             | 0,013                            | 0,108                             | 0,058                            |
| 7                                             | 0,005                             | 0,006                            | 0,183                             | 0,071                            |
| 9                                             | 0,000                             | 0,010                            | 0,069                             | 0,047                            |
| 11                                            | 0,000                             | 0,004                            | 0,046                             | 0,029                            |

<sup>1</sup> Constituído por seis fileiras, semeadas a partir da última fileira da cultivar utilizada como fonte de pólen com transgene, até a primeira fileira da cultivar convencional

Dentro de cada distância, a frequência de plantas transgênicas foi maior no inverno que no verão, em ambos tipos de bordadura. A influência do ambiente parece ser a responsável pela diferença nos resultados. É possível que no ambiente de São Romão, durante o período de inverno, a seca mais intensa que afeta as áreas minimize de tal forma a vegetação, que os insetos polinizadores sejam forçados a migrarem preferencialmente para a soja cultivada no local. Por ocasião do florescimento, o número de insetos visitantes nas flores de soja pode ser bem maior que no ambiente em Uberaba, colaborando para uma maior taxa de polinização cruzada e um conseqüente aumento no fluxo gênico.

Os limites máximos de plantas transgênicas, obtidos pelo *SeedCalc*, são apresentados na Tabela 2 e confirmam que no cultivo de inverno, no ambiente de São

Romão, a quantidade de plantas transgênicas foi sempre maior que no cultivo de verão, em Uberaba. Esses resultados confirmam que as condições ambientais particulares interferem na frequência de plantas transgênicas e estão de acordo com aqueles obtidos por Pereira e outros (2007) .

TABELA 2 – Limites máximos percentuais de plantas transgênicas na avaliação a campo, obtidos pelo *SeedCalc*, nos experimentos com semeadura de verão e inverno e nas diferentes distâncias avaliadas – Uberlândia – MG, 2010.

| Distância da fonte de pólen com transgene (m) | Experimento   |              |                 |                |
|-----------------------------------------------|---------------|--------------|-----------------|----------------|
|                                               | Verão (milho) | Verão (soja) | Inverno (milho) | Inverno (soja) |
| 3,5                                           | 0,07          | 0,03         | 0,25            | 0,16           |
| 4                                             | 0,04          | 0,03         | 0,28            | 0,17           |
| 5                                             | 0,02          | 0,03         | 0,17            | 0,09           |
| 7                                             | 0,02          | 0,02         | 0,25            | 0,11           |
| 9                                             | 0,01          | 0,03         | 0,11            | 0,08           |
| 11                                            | 0,01          | 0,02         | 0,08            | 0,05           |

Pelos dados apresentados na Tabela 2, verifica-se que sempre ocorreu a menor porcentagem de plantas transgênicas, ou seja, um menor fluxo gênico na maior distância avaliada, em todos experimentos e em ambas localidades.

Com os limites máximos de plantas transgênicas nos experimentos semeados no verão com isolamento de milho, calculou-se a equação de regressão, apresentada na Figura 6. Nota-se que quanto mais próximo à fonte de pólen transgênico, maior a ocorrência de plantas transgênicas e a tendência é que essa transferência de material genético cesse a uma distância não detectada no intervalo estudado.

A dispersão dos dados de probabilidade de contaminação(%) em função da distância da fonte de pólen com o transgene (m), no experimento de verão, e utilizando soja como isolamento, é apresentada na Figura 7. Os dados não apresentaram ajuste, indicando que a probabilidade de contaminação foi independente da distância avaliada (Figura 7).

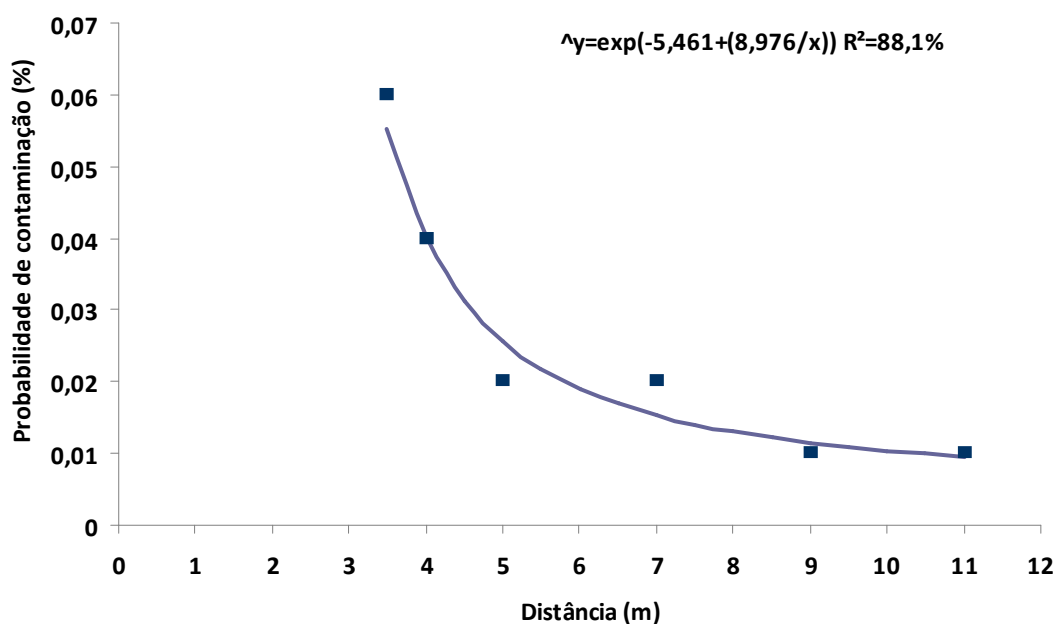


FIGURA 6 – Curva de probabilidade de contaminação (%) e a dispersão dos dados em função da distância da fonte de pólen com o transgene (m), no experimento de verão, utilizando o milho. Uberlândia - MG, 2010.

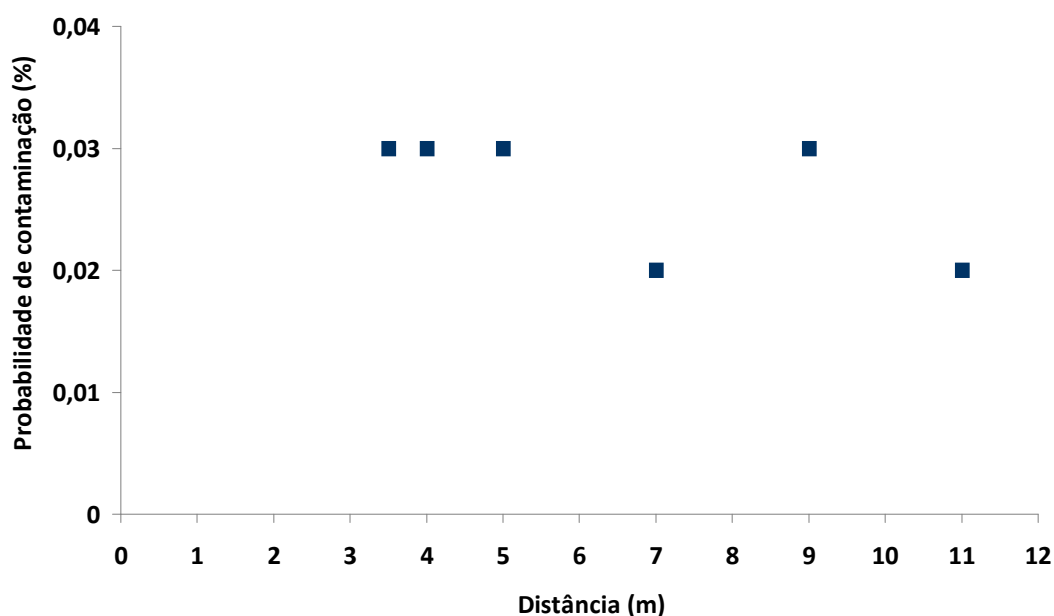


FIGURA 7 – Dispersão dos dados de probabilidade de contaminação (%) em função da distância da fonte com o pólen transgênico (m), no experimento de verão utilizando soja. Uberlândia - MG, 2010.

Para o experimento semeado no inverno com isolamento de milho, os dados de plantas transgênicas, obtidos no *SeedCalc*, tiveram uma dispersão que permitiu ajuste, conforme indicado na Figura 8. Os dados indicam que há uma tendência de diminuição da probabilidade de contaminação à medida que a distância da fonte doadora do pólen com transgene aumenta, estando esta distância fora do intervalo estudado.

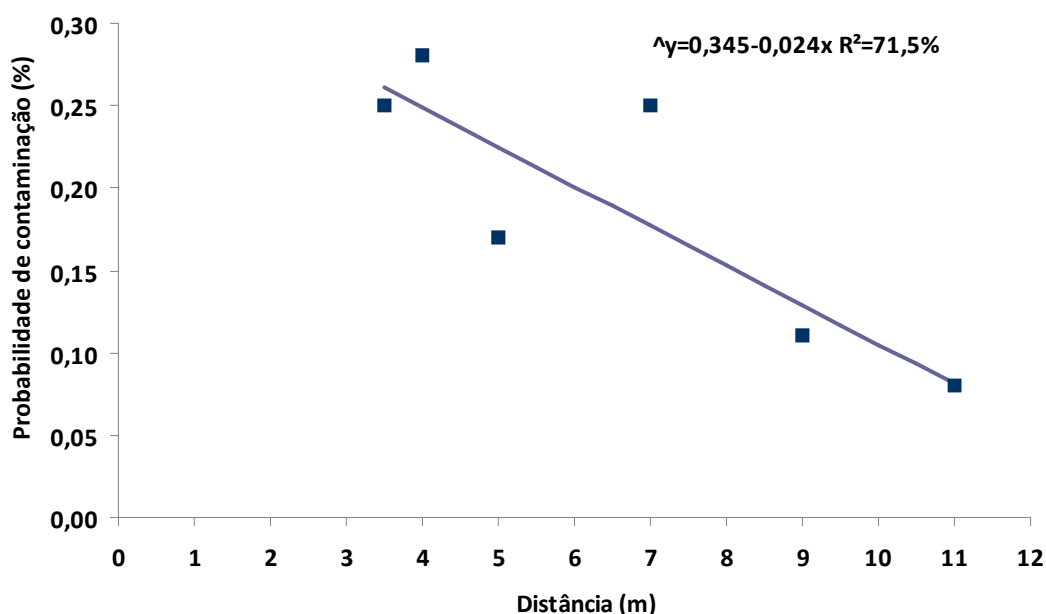


FIGURA 8 – Curva de probabilidade de contaminação (%) e a dispersão dos dados em função da distância da fonte com o pólen transgene (m), no experimento de inverno, utilizando milho. Uberlândia - MG, 2010.

Na Figura 9, está apresentada a curva de regressão e a dispersão dos dados de probabilidade de contaminação (%) em função da distância após o isolamento (m), no experimento de inverno, utilizando a soja como isolamento. A análise destes dados nos mostram que há uma tendência da probabilidade de contaminação atingir seu ponto nulo, em uma distância além daquelas avaliadas no presente estudo.

Com exceção do experimento semeado no verão com bordadura de soja, em que a probabilidade de contaminação não dependeu da distância avaliada, todos outros experimentos mostraram a mesma tendência: da probabilidade de contaminação ir diminuindo à medida que se aumenta a distância da fonte doadora do pólen transgene. Esses resultados estão de acordo com aqueles gerados por outros autores, como Silva e Maciel, (2010); Pereira e outros (2007); Abud e colaboradores (2003).

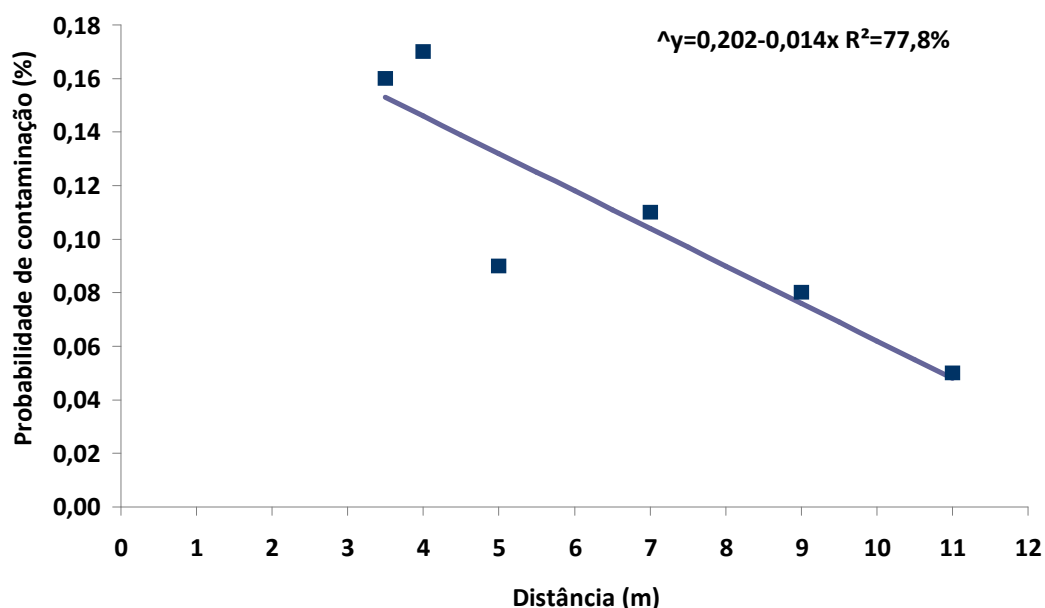


FIGURA 9 – Curva de probabilidade de contaminação (%) e a dispersão dos dados em função da distância da fonte de pólen transgênico (m), no experimento de inverno, utilizando soja. Uberlândia - MG, 2010.

É importante salientar que no intervalo de distâncias avaliado neste estudo, até onze metros, não foi encontrada a distância em que não ocorreria mais fluxo gênico. Considerando a fonte de pólen com transgene, Abud e colaboradores (2003) não observaram fluxo gênico a partir de seis metros e meio de distância, em Planaltina - DF; Pereira e outros (2007) não detectaram eventos de polinização cruzada a partir de quatro metros, em Viçosa -MG, e oito metros, em Florestal - MG; Silva e Maciel (2010) não encontraram plantas resistentes ao glifosato a partir de três metros de distância, em Alfenas - MG.

#### 4.2 Bioensaio

Na Tabela 3, são apresentados os dados relativos ao número de plântulas normais (transgênicas RR), anormais (convencionais) e a frequência de ocorrência de plântulas transgênicas (%), obtidas no bioensaio, para as semeaduras de verão e de inverno e utilizando como isolamento plantas de soja e de milho, a diferentes distâncias da fonte de pólen com transgene. Pelos resultados, nota-se que um pequeno número de plântulas transgênicas foi detectado, havendo maior ocorrência, nas condições de semeadura, no inverno. Os valores de frequência mostram que, no experimento com

semeadura no inverno, para a máxima distância avaliada (11m) e ambos isolamentos, (Tabela 3), o bioensaio detectou uma porcentagem maior de contaminantes que o experimento a campo (Tabela 2), independentemente da barreira utilizada. Nas demais distâncias, as frequências foram sempre maiores no experimento a campo do que para o bioensaio.

TABELA 3 -Número de plântulas normais (transgênicas RR), anormais (convencionais) e frequência, obtido nos bioensaios. Uberlândia – MG, 2010

| Distância da fonte de pólen com transgene (m)           | Quantidade de plântulas |         |                |
|---------------------------------------------------------|-------------------------|---------|----------------|
|                                                         | Anormais                | Normais | Frequência (%) |
| Semeadura no verão com barreira de milho <sup>1</sup>   |                         |         |                |
| 3,5                                                     | 1600                    | 0       | 0              |
| 4                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 5                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 7                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 9                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 11                                                      | 1600                    | 0       | 0              |
| Semeadura no verão com barreira de soja <sup>2</sup>    |                         |         |                |
| 3,5                                                     | 1599                    | 1       | 0,0625         |
| 4                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 5                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 7                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 9                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 11                                                      | 1600                    | 0       | 0              |
| Semeadura no inverno com barreira de milho <sup>1</sup> |                         |         |                |
| 3,5                                                     | 1600                    | 0       | 0              |
| 4                                                       | 1598                    | 2       | 0,1252         |
| 5                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 7                                                       | 1599                    | 1       | 0,0625         |
| 9                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 11                                                      | 1598                    | 2       | 0,1252         |
| Semeadura no inverno com barreira de soja <sup>2</sup>  |                         |         |                |
| 3,5                                                     | 1600                    | 1       | 0,0625         |
| 4                                                       | 1600                    | 1       | 0,0625         |
| 5                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 7                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 9                                                       | 1600                    | 0       | 0              |
| 11                                                      | 1600                    | 2       | 0,1252         |

<sup>1</sup> Isolamento constituído por 6 fileiras de plantas de milho semeadas a partir da última fileira da cultivar utilizada como fonte de pólen com transgene, até a primeira fileira da cultivar convencional após o isolamento.

<sup>2</sup> Isolamento constituído por 6 fileiras de soja convencional semeadas a partir da última fileira da cultivar utilizada como fonte de pólen com transgene, até a primeira fileira da cultivar convencional após o isolamento.

Com o resultado da avaliação das plântulas normais (transgênicas RR) e anormais (convencionais), foram calculadas as porcentagens máximas de contaminação, pelo *SeedCalc*, apresentadas na Tabela 4.

TABELA 04 – Limites máximos percentuais de plântulas transgênicas no bioensaio, obtidos pelo *SeedCalc* nos experimentos com semeadura de verão e inverno e nas diferentes distâncias avaliadas – Uberlândia – MG, 2010.

| Distância da fonte de pólen com transgene (m) | Experimento   |              |                 |                |
|-----------------------------------------------|---------------|--------------|-----------------|----------------|
|                                               | Verão (milho) | Verão (soja) | Inverno (milho) | Inverno (soja) |
| 3,5                                           | 0,19          | 0,30         | 0,21            | 0,30           |
| 4                                             | 0,19          | 0,19         | 0,45            | 0,30           |
| 5                                             | 0,19          | 0,19         | 0,19            | 0,19           |
| 7                                             | 0,19          | 0,19         | 0,30            | 0,19           |
| 9                                             | 0,19          | 0,19         | 0,19            | 0,19           |
| 11                                            | 0,19          | 0,19         | 0,45            | 0,39           |

Os dados apresentados na Tabela 4 mostram que as porcentagens de plântulas transgênicas detectadas no bioensaio (Tabela 4) foram maiores que as porcentagens de plantas transgênicas detectadas no campo (Tabela 2), para todos os experimentos e distâncias, e em ambas localidades, exceto na distância de 3,5m no experimento conduzido no inverno com isolamento de milho.

A dispersão dos dados de probabilidade de contaminação (%) em função da distância após o isolamento (m), no experimento de verão e utilizando soja como isolamento, é apresentada na Figura 10. Os dados não apresentaram ajuste, indicando que a probabilidade de contaminação foi independente da distância avaliada (Figura 10).

Analisando os dados na Figura 10, nota-se menor probabilidade de contaminação à distância de sete metros da fonte doadora do pólen com o transgene. Constata-se também a tendência de aumento deste valor até a maior distância avaliada. Este resultado, aparentemente incoerente, deve ser explicado pelo tamanho da amostra avaliada, pois como o evento ocorre em baixas proporções é importante determinar qual o tamanho necessário que a amostra deve ter para representar o nível de contaminação.

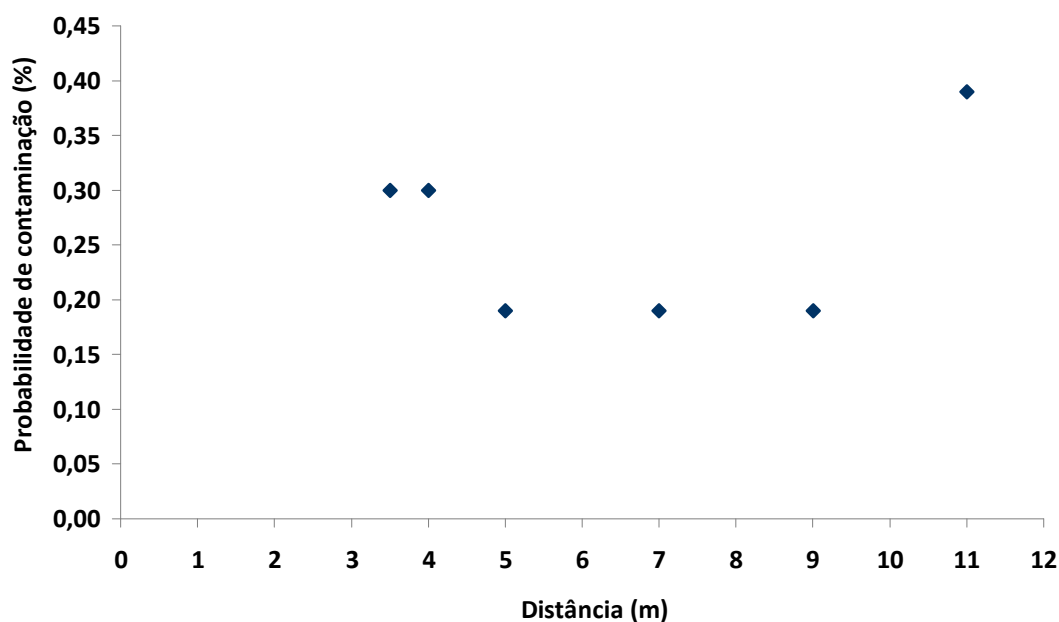


FIGURA 10 - Dispersão dos dados de probabilidade de contaminação (%) em função da distância após o isolamento (m), no experimento de verão, utilizando soja como isolamento. Uberlândia - MG, 2010.

Ainda que caiba ajuste de um modelo, ele não explicaria pois a representatividade é baixa. Estes ajustes não representam as probabilidades de contaminação do bioensaio pois são baseadas em um número muito pequeno de sementes, quando comparadas ao teste a campo. Isso justifica frequências altas nas maiores distâncias, possivelmente sendo um valor pouco representativo. Tal fato sinaliza que os bioensaios não são aplicáveis como testes para quantificar contaminantes, embora tenha sido considerado prático, rápido e eficiente por CUNHA e outros (2005); PEREIRA e outros (2007); TILLMANN e WEST, (2004).

## CONCLUSÕES

- ✓ A frequência de plantas transgênicas foi mais alta nas semeaduras de inverno que de verão, independentemente do isolamento utilizado;
- ✓ O fluxo gênico reduziu com o aumento na distância em todos os experimentos;
- ✓ A distância de 11 m não foi suficiente para evitar o fluxo gênico;
- ✓ O bioensaio não foi eficiente na quantificação do fluxo gênico.

## REFERÊNCIAS

- AHRENT, D. K.; CAVINESS, C. E. Natural cross-pollination of twelve soybean cultivars in Arkansas. **Crop sci.**, Madison, v. 34, n. 2, p. 376-378, mar. / apr. 1994.
- ABUD, S. et al. Dispersão de pólen em soja transgênica na região do cerrado. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1229-1235, out. 2003.
- BARROSO, P. A. V et al. Contenção do cruzamento entre genótipos de algodão por barreiras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 5., 2005, Salvador: **Anais...** Disponível em: < [http://www.cnpa.embrapa.br/produtos /algodão/publicacoes /trabalhos\\_cba5/index.html](http://www.cnpa.embrapa.br/produtos /algodão/publicacoes /trabalhos_cba5/index.html)>. Acesso em: 22 ago. 2009.
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1998. 453 p.
- BORÉM, A. Considerações sobre o fluxo gênico: quais são os verdadeiros riscos do escape gênico. **Biotecnologia, ciência & desenvolvimento**. Meio ambiente, Brasília, n. 34, p. 86-90, jan./jun. 2005. Edição especial.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa, 2009. 399 p.
- CHIARI, W. C. et al. Pollination of soybean (*Glycine max* L. Merrill) by honeybees (*Apis mellifera* L.). **Bras. arch. biol. technol.**, Curitiba, v. 48, n. 1, p. 31-36, 2005.
- CHIARI, W. C. et al. Polinização por *Apis mellifera* em soja transgênica [*Glycine max* (L.) Merrill] Roundup Ready<sup>TM</sup> cv. BRS 245 RR e convencional cv. BRS 133. **Acta sci. agron.**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 267-271, 2008.
- CUNHA, C.dos S. M. et al. Comparação de métodos na detecção de sementes de soja geneticamente modificada resistente ao glifosato. **Rev. Bras. Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 167-175, 2005.
- EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja da região central do Brasil 2010**. Londrina: Embrapa soja. 2010. 255 p.
- EMBRAPA MILHO E SORGO. **Cultivo do Milho**. 4.ed. 2008. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 28 set. 2009. (Versão eletrônica).
- FUJITA, R. et al. The extent of natural cross-pollination in wild soybean (*Glycine soja*). **Journal of heredity**, Oxford, v. 88, n. 2, p. 124-128. 1997.
- GALVÃO, A. **A situação global das lavouras transgênicas**. Conselho de informações sobre biotecnologia - CIB. Disponível em: <[http://www.cib.org.br/apresentacao/relatorio\\_ISAAA\\_2009.pdf](http://www.cib.org.br/apresentacao/relatorio_ISAAA_2009.pdf)>. Acesso em: 04 nov. 2010.
- GAZZIERO, D. L. P. As plantas daninhas e soja resistente ao glyphosate no Brasil. In: SEMINÁRIO-TALLER IBEROAMERICANO – resistência a herbicidas y cultivos transgênicos, 2005, Colônia Del Sacramento. **Ponencias...** La Estanzuela: INIA, 2005. p. 105-109.

HOFFMANN, M. **Estrutura e importância de uma comunidade de abelhas (Hymenoptera: Apoidea) no Rio Grande do Sul, para a polinização de plantas cultivadas.** 1990. 177 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1990.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o código florestal brasileiro. **Biota neotrop.**, Campinas, v. 10, n. 4, p. 59-62, out. / dez. 2010.

JAEGER, P. et al. Caracterização genética de populações naturais de *Xylopia emarginata* Mart. (Annonaceae). **Scientia Forestalis**. Piracicaba, n. 73, p. 91-99, mar. 2007.

JAMES, C. **Preview:** global status of commercialized biotech/GM crops: 2008. ISAAA Brief n. 39. ISAAA: Ithaca, NY.

JESUS-HITZSCHKY, K. R. E. de.; CREMONEZI, S. M. N.; LIMA, D. U. de. **Método GMP-RAM para avaliação de riscos ambientais de plantas geneticamente modificadas (PGM):** estudo de caso do mamão geneticamente modificado para resistência ao vírus da mancha anelar. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2007. 56 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 45).

LOPES, V. S. et al. Identificação de pontos críticos de contaminação cruzada entre cultivos transgênicos e convencional na cadeia produtiva da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 5.; MERCOSOJA 2009, Goiânia. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2009. p. 105.

PEREIRA, W. A. et al. Fluxo gênico em soja geneticamente modificada e método para sua detecção. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 42, n.7, p. 999-1006, jul. 2007.

PESKE, S.T.; TILLMANN, M. A. A. Limites de tolerância para sementes adventícias. **Seednews**, Pelotas, n. 5, set. / out. 2009. Disponível em: < [http://www.seednews.inf.br/\\_html/site/content/reportagem\\_capa/imprimir.php?id=32](http://www.seednews.inf.br/_html/site/content/reportagem_capa/imprimir.php?id=32)>. Acesso em: 22 ago. 2010.

RAY, J. D. et al. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. **Environ. biosafety res.** Les Ulis, v. 2, n. 2, p. 133-138. 2003.

SCHIOSCHET, T.; PAULA, N. de. GM soy in Brazil: limits to the technological dissemination process. Translated by Leticia Cesarino. **Estud. soc. agric.**. 2008, vol.4; Special edition.

SCHUSTER, I. et al. Fluxo gênico em soja na região oeste do Paraná. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 515-520, abr. 2007.

SILVA, A. L. L. da. et al. Contenção do fluxo gênico de plantas geneticamente modificadas. **Caderno de Pesquisa Série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 19, n. 1, p. 18-26, 2007.

SILVA, E. C. da.; MACIEL, G. M. Fluxo gênico em soja na região sul de Minas Gerais **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 26, n. 4, p. 544-549, jul. / ago. 2010.

SIQUEIRA, J. O. et al. Interferências no agrossistema e riscos ambientais de culturas transgênicas tolerantes a herbicidas e protegidas contra insetos. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.21, n.1, p. 11-81, jan. / abr. 2004.

SNEDECOR, G.W., COCHRAN, W.G. **Statistical Methods**. 6. ed. Ames: Iowa State College Press, 1967. 192 p.

TILLMANN, M. A. A.; WEST, S. Identification of genetically modified soybean seeds resistant to glyphosate. **Sci. Agric.** Piracicaba, v. 61, n. 3, p. 336-341, 2004.

VALOIS, A. C. C. Importância dos transgênicos para a agricultura. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**. Brasília, v. 18, n. 1, p. 27-53, jan. / abr. 2001.

VIDAL NETO, F. das C.; FREIRE, E. C. Melhoramento do algodoeiro. In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1., 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Embrapa agroindústria tropical, 2009. p. 102-120.

VIDAL, R. A. et al. Relação entre distância geográfica e variabilidade genética de uma população de *Bidens* spp. com resistência aos herbicidas inibidores de ALS. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 149-155, 2006.