

SEGURANÇA ALIMENTAR: TRANSFERÊNCIA HORIZONTAL DE GENES E ALIMENTOS TRANSGÊNICOS

Ana Paula Trovatti Uetanabaro*

Aristóteles Góes-Neto**

RESUMO — *A transferência de informação genética, mesmo entre organismos não relacionados durante a evolução, tem sido inferida a partir da comparação de seqüências de nucleotídeos e demonstra evidências da transferência lateral de genes entre os diferentes grupos de organismos. Estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de identificar os riscos da transferência de material genético de plantas transgênicas para o homem e o ambiente. O “European Network on the Safety Assessment of Genetically Modified Crops” (ENTRANSFOOD), órgão responsável pela avaliação da segurança alimentar relacionada a alimentos transgênicos, classifica esse risco como muito baixo. Porém, eventos raros podem ter um grande impacto ecológico e, além disso, as limitações experimentais não podem ser esquecidas.*

PALAVRAS-CHAVE: *Transferência horizontal de genes; Plantas transgênicas; Organismo geneticamente modificado.*

INTRODUÇÃO

Transferência horizontal de genes (THG) é a transferência de material genético diretamente para uma célula viva ou um organismo, seguido de sua expressão. A THG desempenha o papel principal na evolução dos genomas, pois é considerada como mais importante do que a alteração da função do gene através de mutações pontuais na adaptação de bactérias a novos ambientes. Ravi, Rivera e Lake (1999) sugeriram que a

* Prof. Assistente, DSAU (UEFS). Doutor em Ciência de Alimentos. Laboratório de Controle de Qualidade. E-mail: apaula@uefs.br

** Prof. Adjunto, DBIO (UEFS). Doutor em Botânica. Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LAPEM). E-mail: agoesnt@uefs.br.

Universidade Estadual de Feira de Santana – Dep. de Tecnologia. Tel./Fax (75) 3224-8056 - BR 116 – KM 03, Campus - Feira de Santana/BA – CEP 44031-460. E-mail: tec@uefs.br

THG ocorra mais freqüentemente com genes operacionais (envolvidos em atividades básicas celulares) do que para genes informativos (envolvidos na transcrição, tradução e processos relacionados), devido ao tamanho e à complexidade, o que tornaria a transferência desses últimos menos provável. É importante reconhecer que, quanto mais recente é o evento da transferência e mais distantemente relacionados são os organismos envolvidos, mais convincente é a evidência para a transferência horizontal de genes (EEDE et al., 2004). A transferência horizontal de genes (THG) é um dos campos mais intensamente estudados em biociências desde 1940, pois esse assunto não é só de interesse para o conhecimento das implicações evolutivas, mas, também, tornou-se muito importante no estudo de risco da liberação acidental ou deliberada de organismos geneticamente modificados (OGMs) no ambiente (DROGË; PÜHLER; SELBITSCHKA, 1998).

O uso de plantas geneticamente modificadas na agricultura tem aumentado a preocupação sobre o impacto dos genes engenheirados na saúde humana e no ambiente. Isso é baseado na hipótese que, se esses genes fossem transferidos para microrganismos, por exemplo, eles poderiam ser disseminados no ambiente (COURVALIN, 1994; TRIEU-COUT; ARTHUR; COURVALIN, 1987). Como, por exemplo, já é conhecida a existência de microrganismos patogênicos oportunistas de origem do solo resistentes a novos antibióticos (COURVALIN, 1994; TRIEU-COUT; ARTHUR; COURVALIN, 1987). Segundo os estudos de Salyers e Amañile-Cuervas (1997), existem evidências que apóiam a manutenção estável de genes de resistência mesmo na ausência de pressão seletiva. Os genes de resistência e seus vetores são facilmente adquiridos, porém são dificilmente perdidos. Essa facilidade de aquisição e transferência de genes de resistência é favorecida pela cooperação entre diferentes elementos de transferência genética que atuam na THG de determinantes de resistência a antibióticos.

Os eventos de transferência gênica na natureza têm sido estudados utilizando-se três maneiras distintas: (i) detecção de genes homólogos em diferentes organismos por análise da seqüência de nucleotídeos ou de aminoácidos que não seguem

no padrão geral de divergência evolutiva destes organismos; (ii) a demonstração da transferência de genes experimentalmente em condições de laboratório e (iii) análise da transferência da informação genética em condições mais naturais empregando microcosmos e estudos de campo (DROGË; PÜHLER; SELBITSCHKA, 1998).

2 THG ENTRE DIFERENTES GRUPOS DE ORGANISMOS

Evidências circunstanciais indicam o movimento de genes entre diferentes espécies durante a evolução. Um evento de THG entre plantas e bactérias foi descrito por Furner e outros (1986) e Meyer; Ichiawa; Meins, (1995); entre células humanas e bactérias, por Holmgren e Bränden (1989); entre diferentes espécies de levedura, por Hardy e Clark-Walker (1991); entre diferentes espécies de moscas por Houck e outros (1991); entre animais e plantas, por Calvi e outros (1991); entre protistas e bactérias, por Smith; Feng; Doolittle, (1992); entre arqueias e bactérias, por Smith, (1994) e entre fungos e bactérias por Klotz; Klassen; Loewen, (1997).

3 THG ENTRE MICRORGANISMOS

A transmissão lateral de informação genética entre bactérias pode ser realizada através da transdução (CALENDAR, 1988), transformação (LORENZ; WACKERNAGEL, 1994) ou conjugação (CLEWELL, 1993). Cada mecanismo de transferência é caracterizado por seu hospedeiro específico. Entre bactérias, a THG é favorecida pela presença de elementos genéticos móveis (plasmídeos, transposons, integrons, cassetes de genes e bacteriófagos) e pela organização do genoma bacteriano em operons, o que permite a transferência cooperativa de genes com funções relacionadas (NWOSU, 2001).

Com o propósito de se obter provas experimentais para demonstrar a transferência de genes entre organismos, muitos laboratórios realizaram estudos que objetivaram, principalmente, a transferência de genes por conjugação, devido à grande

promiscuidade dos processos conjugativos. Alguns exemplos dos estudos realizados foram: transferência de plasmídeos conjugativos entre algumas espécies de bactérias gram-positivas (CLEWELL et al., 1974; HORODNICEANU et al., 1976; KIESER et al., 1982) e entre a maioria das espécies de bactérias gram-negativas (THOMAS, 1989); transferência de plasmídeo de mobilização entre *Agrobacterium tumefaciens* e células de plantas, (BUCHANAN-WOLLASTON; PASSIATORE; CANNON, 1987); transferência de plasmídeo entre *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae* (HEINEMANN; SPRAGUE JR., 1989); transferência de plasmídeos entre bactérias gram-positivas e gram-negativas (TRIEU-CUOT; CARLIER; COURVALIN, 1988; MAZODIER; PETTER; THOMPSON, 1989; SHÄFER et al., 1990; WILLIAMS; YONG; YONG, 1990; GORMELY; DAVIES, 1991); transferência de transposons conjugativos entre bactérias gram-positivas e gram-negativas, (BELTRAM; STRATZ; DURRE, 1991; CLEWELL; FLANNANGAN, 1993); transferência do vetor de clonagem de *E. coli* e células animais (HEITMANN; LOPES-PILA, 1993); transferência de plasmídeos conjugativos entre membros do domínio Archaea (SCHLEPER et al., 1995); transferência de plasmídeo mitocondrial entre diferentes gêneros de fungos (KEMPKEN, 1995). A importância do processo conjugativo para o fluxo gênico entre organismos pertencentes até mesmo a diferentes domínios é evidente na transferência de informação genética ocorrida naturalmente de *Agrobacterium tumefaciens* para muitas plantas mono e dicotiledôneas (ZAMBRYSKI, 1992). Os estudos de Gebhard e Smalla (1999) mostraram que o DNA de beterraba transgênica pode ser detectado por vários meses no solo sob condições de campo. Estudos de Demaneche; Gourbiere e simonet, (2001) mostraram a transformação de duas bactérias, *Pseudomonas fluorescens* e *Agrobacterium tumefaciens*, em microcosmos do solo sem nenhum tratamento químico ou físico prévio. Segundo os autores, esses resultados indicam que o número de bactérias que podem sofrer transformação pode ser bem maior do que se pensava e que essas bactérias podem encontrar as condições necessárias para a captura de DNA extracelular no solo. Recentemente, foi demonstrado que a maioria do DNA transgênico é degradado

dentro da própria célula vegetal, porém quantidades suficientes de DNA persistem e são liberadas no solo (KAY et al., 2003). Algumas questões têm sido levantadas a respeito da transferência do DNA recombinante introduzido nos OGMs para microrganismos autótonos e, conseqüentemente, inúmeros estudos têm sido iniciados com o objetivo de analisar a transferência de genes no meio ambiente. Experimentos com bactérias demonstram a existência de *hot-spots* de eventos de THG no meio ambiente (LACY, 1984; VAN ELSAS; TREVORS; STRDUB, 1988; PRETORIUS-GÜTH; PUHLER; SIMON, 1990; LILLEY et al., 1994; KIDAMBI; RIPP; MILLER, 1994; BJÖRKLÖF et al., 1995; TROXLER et al., 1997; LILLEY; BAILEY, 1997). Em particular, a fitosfera tem mostrado condições favoráveis para a troca de genes entre bactérias. Esse fato é, provavelmente, decorrente do fato que as plantas contêm micro-habitats onde a presença de nutrientes é favorável à troca de informação genética (DRÖGE; PUHLER; SELBITSCHAKA, 1998).

4 THG DE PLANTAS TRANSGÊNICAS PARA MICRORGANISMOS

Baseado nas informações de que a troca de material genético entre organismos mesmo que distantemente relacionados, é possível, então, pensar que a transferência do material recombinante a partir de plantas transgênicas também pode ocorrer (DROGÉ; PUHLER; SELBITSCHAKA, 1998). Estudos têm sido realizados com o intuito de analisar a ocorrência de THG de plantas para bactérias sob condições de laboratório ou mesmo em campo experimental. Broer; DROGER-LOSER; GERKE (1996) não observaram THG de plantas de tabaco transgênico e o fitopatógeno *A. tumefaciens*. O trabalho de Schlüter, Futurer e Potrycus (1995) também não observou THG entre batata transgênica e o fitopatógeno *Erwinia chrysanthemi*. Smalla et al. (1994) estudaram THG entre beterraba transgênica e bactérias nativas do solo e também não foi observado a THG; Paget e Simonet (1994) também não observaram THG entre tabaco transgênico e bactérias nativas do solo. Porém, no trabalho de Hoffmann, Goltz e Schieder (1994), foi observado o fenômeno

THG entre a planta transgênica *Brassicaceae* e o fungo *Aspergillus niger*. Segundo Gebhard e Smalla (1999), a detecção dos eventos de THG é dificultado pelas limitações das técnicas atualmente disponíveis. Uma comprovação mais apurada da THG de plantas para bactérias requer o isolamento dos possíveis transformantes para a caracterização genética. Segundo Smith, Dowson e Spratt (1991), a estratégia para monitorar a transferência de genes completos ou de grandes fragmentos de DNA é, geralmente, falha, pois a transformação freqüentemente envolve a integração estável de pequenos fragmentos de DNA resultando em mosaicos de genes. Baseado nos eventos de recombinação, a presença de genes, promotores, terminadores ou origem da replicação vegetativa de bactérias em plantas transgênicas provavelmente elevaria a probabilidade da integração estável dos fragmentos de DNA (GEBHARD; SMALLA, 1999; DE VRIES; WACKERNAGEL, 1998). O trabalho de De Vries, Meier e Wackernagel (2001) mostrou que a transformação de *Pseudomonas stutzeri* e *Acinetobacter* sp. por DNA de tomate transgênico ocorre e depende estritamente de seqüências homólogas nas células receptoras.

5. IMPLICAÇÕES DA THG ENTRE PLANTAS E MICRORGANISMOS E ALIMENTOS TRANSGÊNICOS

Nos estudos de Dröge, Puhler e Selbitschaka (1998), foi demonstrada a probabilidade da transferência de um gene de plantas transgênicas para bactérias e verificou-se que ela é da ordem de $2,0 \times 10^{-11}$ a $1,3 \times 10^{-21}$ por bactéria, enquanto que a transferência de gene por conjugação entre bactérias do solo e enterobactérias está entre 10^{-1} a 10^{-8} por célula doadora. Para Azevedo e Araújo (2003), a transferência de DNA entre plantas e bactérias através do solo enfrenta barreiras como o fato que o DNA transgênico de plantas deva ser liberado no solo em condições apropriadas para a manutenção das características do DNA; que a quantidade extremamente pequena de DNA transgênico quando comparado ao DNA total; bem como o baixo número de células competentes no solo e a ocorrência de mecanismos de recombinação para a integração do DNA e,

caso a integração ocorra, deve haver alguma vantagem seletiva para manutenção do DNA adquirido pelo microrganismo receptor. Em 2000, foi criada a rede temática ENTRANSFOOD (European Network on the Safety Assessment of Genetically Modified Crops), responsável pelos diversos testes e a avaliação de alimentos contendo transgênicos ou produzidos a partir de organismos geneticamente modificados. Um dos grupos de trabalho ficou responsável pela revisão em relação ao potencial risco de THG no consumo de alimentos e rações derivados de plantas transgênicas. Segundo Eede e outros (2004), caso existam seqüências homólogas entre o DNA exógeno e o da bactéria e, com isso, a integração do DNA exógeno ocorra, a probabilidade da expressão do DNA exógeno por uma bactéria pertencente ao trato gastro-intestinal será ainda menor que a probabilidade de transferência. Porém, os mesmos autores ressaltam que se deve evitar a utilização de seqüências de DNA bacteriano para a construção de plantas transgênicas.

Cabe lembrar que esses resultados são parte de um estudo maior e que outras revisões da ENTRANSFOOD ainda serão publicadas.

6 CONCLUSÕES

Tanto modelos teóricos quanto experimentais indicam que a transferência de DNA recombinante de plantas transgênicas para microrganismos associados a plantas ocorre em frequência muito baixa. Entretanto, a transferência de genes pode acontecer e as implicações da transferência de DNA recombinante devem ser questionadas. A falta de informação sobre a abundância de bactérias naturalmente competentes no meio ambiente, a frequência dos processos de transformação e os fatores ambientais gerados por esses processos atualmente ainda não nos permitem prever a extensão da THG de plantas para bactérias. Para Dröge, Puhler e Selbitschaka (1998) a frequência da THG é fator de menor importância, pois mesmo eventos raros podem ter um impacto ecológico caso a transferência de genes aumente o *fitness* do organismo receptor. Nesse caso, os genes codificados por DNA recombinante representam um

risco potencial e é esse problema que deve ser o foco das considerações em biossegurança, ao invés do fenômeno natural, a THG, propriamente dita. Nielsen e outros (1998) nos chama atenção para o fato da inferência ser baseada em um pequeno número de estudos experimentais e indicações encontradas na literatura. Além disso, “frequência de transferência” não deve ser confundida com “implicações ambientais”, uma vez que a frequência de THG mostra, provavelmente, somente um papel marginal quando comparado com a força seletiva agindo sobre os fatores.

ALIMENTARY SAFETY: HORIZONTAL GENE TRANSFER AND TRANSGENIC FOOD

ABSTRACT — *Genetic information transfer, even between evolutionary unrelated organisms, has been inferred from the comparison of sequences of nucleotides, and evidences of the lateral transfer of genes between different groups of organisms have been demonstrated. Studies have been developed with the objective of identifying the risks of the transfer of genetic material of transgenic plants to man and to the environment. The “European Network on the Safety Assessment of Genetically Modified Crops” (ENTRANSFOOD), the agency responsible for the evaluation of the alimentary safety related to transgenic foods, classifies the risk as very low. However, rare events can have a great ecological impact, and also experimental limitations cannot be forgotten.*

KEY WORDS: *Horizontal gene transfer; Transgenic plants; Genetically modified organism.*

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Genetically modified crops: environmental and human health concerns. **Mutation Research**, v. 544, p. 223-233, 2003.

BELTRAM, J.; STRÄTZ, M.; DÜRRE, P. Natural transfer of conjugative transposon Tn916 between gram-positive and gram-negative bacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 173, p. 443-448, 1991.

BJÖRKLÖF, K.; et al. High frequency of conjugative versus plasmid segregation of RP1 in epiphytic *Pseudomonas syringae* populations. **Microbiology**, v. 141, p. 2719-2727, 1995.

BROER, I.; DRÖGER-LASER, W.; GERKE, M. Examination of putative horizontal gene transfer from transgenic plants to Agrobacteria. In: Schmidt, E.R., Hankeln, T. (Ed.), **Transgenic Organisms and Biosafety**. Berlin: Springer-Verlag, 1996. p. 67-70.

BUCHANAN-WOLLASTON, V.; PASSIATORE, J.E.; CANNON, F. The *mob* and *oriT* mobilization functions of a bacterial plasmid promote its transfer to plants. **Nature**, v. 328, p. 172-175, 1987.

CALENDAR, R. (Ed.). **The bacteriophages**. New York: Plenum. 1988.

CALVI, B.R. et al. Evidence for a common evolutionary origin of inverted repeat transposons in drosophyla and plants: hobo, Activador, and Tam3. **Cell**, v. 66, p. 465-471, 1991.

CLEWELL, D.B. et al. Characterization of three plasmid desoxyribonucleic acid molecules in a strain of *Streptococcus faecalis*: identification of a plasmid determining erythromycin resistance. **Journal of Bacteriology**, v. 117, p. 283-289, 1974.

CLEWELL, D.B. (Ed.). **Bacterial conjugation**. New York: Plenum Press, 1993.

CLEWELL, D.B.; FLANNANGAN, S. E. The conjugative transposons of gram-positive bacteria. In: Clewell, D.B. (Ed.). **Bacterial conjugation**. New York: Plenum Press, 1993. p. 369-393.

COURVALIN, P. Transfer of antibiotic resistance genes between gram-positive and gram-negative bacteria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 38, p. 1447-1451, 1994.

DEMANECHE, KAY, E.; GOURBIERE, F.; SIMONET, P. Natural transformation of *Pseudomonas fluorescens* and *Agrobacterium tumefaciens* in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 2617-2621, 2001.

DE VRIES, J.; WACKERNAGEL, W. Detection of *nptII* (kanamycin resistance) genes in genomes of transgenic plants by marker-rescue transformation. **Molecular and General Genetics**, v. 257, p. 606-613, 1998.

DE VRIES, J.; MEIER, P.; WACKERNAGEL, W. The natural transformation of the bacteria *Pseudomonas stutzeri* and *Acinetobacter* sp. by transgenic plant DNA strictly depends on homologous sequences in the recipient cells. **FEMS Microbiology Letters**, v. 195, p. 211-215, 2001.

DRÖGE, M.; PÜHLER, A.; SELBITSCHKA, W. Horizontal gene transfer as a biosafety issue: A natural phenomenon of public concern. **Journal of Biotechnology**, v. 64, p. 75-90, 1998.

EEDE, G. et. al. The relevance of gene transfer to the safety of food and feed derived from genetically modified (GM) plants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1127-1156, 2004.

FURNER, I. J. et. al. An *Agrobacterium* transformation in the evolution of the genus *Nicotiana*. **Nature**, v. 319, p. 422-427, 1986.

GEBHARD, F.; SMALLA, K. Transformation of *Acinetobacter* sp. BD413 by transgenic sugar beet DNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 1550-1554, 1998.

GEBHARD, F.; SMALLA, K. Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 28, p. 261-272, 1999.

GORMELY, E. P.; DAVIES, J. Transfer of plasmid RSF1010 by conjugation from *Escherichia coli* to *Streptomyces lividans* and *Mycobacterium smegmatis*. **Journal of Bacteriology**, v. 173, p. 6705-6708, 1991.

HARDY, C.M.; CLARK-WALKER, G. D. Nucleotide sequence of the *COX1* gene in *Kluyveromyces lactis* mitochondrial DNA: evidence for recent horizontal transfer of a group II intron. **Current Genetics**, v. 20, p. 99-114, 1991.

HEINEMANN, J.A.; SPRAGUE JR, G. F. Bacterial conjugative plasmids mobilize DNA transfer between bacteria and yeast. **Nature**, v. 340, p. 205-209, 1989.

HEITMANN, D.; LOPES-PILA, J. M. Frequency and conditions of spontaneous plasmid transfer from *E. coli* to cultured mammalian cells. **BioSystems**, v. 29, p. 37-48, 1993.

HOFFMANN, T.; GOLZ, C.; SCHIEDER, O. Foreign DNA sequences are received by a wild-type strain of *Aspergillus niger* after co-culture with transgenic higher plants. **Current Genetics**, v. 27, p. 70-76, 1994.

HOLMGREN, A.; BRÄNDEN, C. I. Crystal structure of chaperone protein PapD reveals an immunoglobulin fold. **Nature**, v. 342, p. 248-251, 1989.

HORODNICEANU, T. et. al. R. plasmids in *Streptococcus agalactiae* (group B). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 10, p. 795-801, 1976.

HOUCK, M.A. et. al. Possible transfer horizontal of *Drosophila* genes by the mite *Proctolaelaps regalis*. **Science**, v. 253, p. 1125-1128, 1991.

KAY, E. et. al. Intergeneric transfer of chromosomal and conjugative plasmid genes between *Ralstonia solanacearum* and sp BD413. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 16, p. 74-82, 2003.

KEMPKEN, F. Horizontal transfer of a mitochondrial plasmid. **Molecular and General Genetics**, v. 248, p. 89-94, 1995.

KIDAMBI, S.P.; RIPP, S.; MILLER, R.V. Evidence for phage mediated gene transfer among *Pseudomonas aeruginosa* strains on the phylloplane. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p.496-500, 1994.

KIESER, T. et. al. pIJ101, a multi-copy broad host-range *Streptomyces* plasmid: functional analysis and development of DNA cloning vectors. **Molecular and General Genetics**, v. 185, p. 223-238, 1982.

KLOTZ, M.G.; KLASSEN, G.R.; LOEWEN, P. C. Phylogenetic relationship among prokaryotic and eukaryotic catalases. **Molecular Biology and Evolution**, v. 14, p. 951-958, 1997.

LACY, G.H.; STROMBERG, V.K.; CANNON, N.P. *Erwinia amylovora* mutants and *in planta*-derived transconjugants resistant to oxytetracycline. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 6, p. 33-39, 1984.

LILLEY, et. al. In situ transfer of an exogenously isolated plasmid between *Pseudomonas* spp. in sugar beet rhizosphere. **Microbiology**, v. 140, p. 27-33, 1994.

LILLEY, A.K.; BAILEY, M.J. The acquisition of indigenous plasmids by a genetically marked pseudomonad population colonizing the sugar beet phytosphere is related to local environment conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 1577-1583, 1997.

LORENZ, M.G.; WACKERNAGEL, W. Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. **Microbiology Review**, v. 58, p. 563-602, 1994.

MAZODIER, P.; PETTER, R.; THOMPSON, C. Intergenic conjugation between *Escherichia coli* and *Streptomyces* species. **Journal of Bacteriology**, v. 171, p. 3583-3585, 1989.

MEYER, A.D.; ICHIAWA, T.; MEINS JR, F. Horizontal gene transfer: regulated expression of a tobacco homologue of the *Agrobacterium rhizogenes* *rolC* gene. **Molecular and General Genetics**, v. 249, p. 265-273, 1995.

NIELSEN, K.M.; et al. Horizontal transfer from transgenic plants to terrestrial bacterial – a rare event ?. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 22, p. 79-103, 1998.

NWOSU, V.C. Antibiotic Resistance with particular reference to soil microorganisms. **Research in Microbiology**, v. 152, p. 421-430, 2001.

PAGET, E.; SIMONETI, P. On the track of natural transformation in soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 15, p. 109-118, 1994.

PRETORIUS-GÜTH, I.M.; PÜHLER, A.; SIMON, R. Conjugal transfer of megaplasmid 2 between *Rhizobium meliloti* strains in alfalfa nodules. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 2354-2359, 1990.

RAVI, J.; RIVERA, M.C.; LAKE, A. Horizontal gene transfer among genomes: the complexity hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, p. 3801-3806, 1999.

SALYERS, A. A.; AMA´BILE-CUEVAS, C. F. Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, p. 2321-2325, 1997.

SCHLEPER, C. et. al. A multicopy plasmid of the extremely thermophilic archaeon *Sulfolobus* effects its transfer to recipients by mating. **Journal of Bacteriology**, v. 177, p. 4417-4426, 1995.

SCHLÜTER, K.; FÜTERER, J.; POTRYCUS, I. "Horizontal" gene transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia chrysanthemi*) occurs-if at all- at an extremely low frequency. **Bio/Technology**, v. 13, p. 1094-1099, 1995.

SHÄFER, A. et. al. High-frequency conjugal plasmid transfer from gram-negative *Escherichia coli* to various gram-positive coryneform bacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 172, p. 1663-1666, 1990.

SMALLA, K. et. al. Bacteria communities influenced by transgenic plants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE BIOSAFETY RESULTS OF FIELD TESTS OF GENETICALLY MODIFIED PLANTS AND MICROORGANISMS, 3., 1994, California: **Proceeding...** California: The University of California, 1994, p. 157-167.

SMITH, J.M.; DOWSON, C.G.; SPRATT, B. G. Localized sex in bacteria. **Nature**, v. 349, p. 29-31, 1991.

SMITH, M.W.; FENG, D.F.; DOOLITTLE, R. F. Evolution by acquisition: the cases for horizontal gene transfers. **TIBS**, v. 17, p. 489-493, 1992.

SMITH, M. W. Interspecific gene transfer: cases for acquisition of foreign genes revealed by protein sequence homology. In: PÜHLER et. al. **Horizontal gene transfer-Mechanisms and implications**. Bielefeld: The University of Bielefeld Press, 1994.

THOMAS, C. M. (Ed.). **Promiscuous plasmids of gram-negative bacteria**. London: Academic Press, 1989.

TRIEU-COUT, P.; ARTHUR, M.; COURVALIN, P. Origin, evolution and dissemination of antibiotic resistance genes. **Microbiological Science**, v. 4, p. 263-266, 1987.

TRIEU-COUT, P.; CARLIER, C.; COURVALIN, P. Conjugative plasmid transfer from *Enterococcus faecalis* to *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**, v. 170, p. 4388-4391, 1988.

TROXLER, J. et. al. Conjugative transfer of chromosomal genes between fluorescent pseudomonads in the rhizosphere of wheat. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 213-219, 1997.

VAN ELSAS, J.D.; TREVORS, J.T.; STARODUB, M. E. Bacterial conjugation between pseudomonads in the rhizosphere of wheat. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 53, p. 299-306, B1988.

WILLIAMS, D.R.; YOUNG, D.I.; YOUNG, M. Conjugative plasmid transfer from *Escherichia coli* to *Clostridium acetobutylicum*. **Journal of General Microbiology**, v. 136, p. 819-826, 1990.

ZAMBRYSKI, P.C. Chronicles from the *Agrobacterium*-plant cell DNA transfer story. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 43, p. 465-490, 1992.