

PARECER TÉCNICO PRÉVIO CONCLUSIVO
Nº 513/2005

Processo nº: 01200.001471/2003-01

Requerente: Monsanto do Brasil Ltda.

CNPJ: 64.858.525/0001-45

Endereço: Av. Nações Unidas, 12901 – Torre Norte – 7º e 8º andares – São Paulo – SP –
CEP 04578-000

Assunto: Liberação comercial de algodão geneticamente modificado resistente às
principais pragas da Ordem Lepidoptera

Extrato Prévio: 18/2003, publicado no D.O.U. nº 107, de 5 de junho de 2003, seção 3,
páginas 5 e 6

Reunião: 86ª Reunião Ordinária da CTNBio, ocorrida em 17 de março de 2005

Decisão: DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação do pedido de Parecer Técnico Prévio Conclusivo para liberação comercial de algodão geneticamente modificado resistente a insetos, concluiu pelo seu DEFERIMENTO, nos termos deste parecer técnico prévio conclusivo.

A Monsanto do Brasil Ltda. solicita à CTNBio parecer técnico conclusivo sobre a biossegurança do organismo geneticamente modificado – OGM designado “Algodão Bollgard Evento 531”, para fins de liberação comercial no Brasil. O referido OGM resiste às principais pragas da Ordem Lepidoptera que afetam a cultura do algodão no Brasil, como o curuquerê-do-algodão (*Alabama argillacea*), a lagarta-rosada (*Pectinophora gossypiella*) e a lagarta-da-maçã (*Heliothis virescens*). O algodão Bollgard evento 531 foi geneticamente modificado a partir da transformação da variedade comercial Coker 312 com o vetor PV-GHBK04, por meio do sistema mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. A transformação inseriu os genes *cry1Ac*, *nptII* e *aad* no genoma dessa variedade de algodão. A proteína *Cry1Ac* é proveniente de *Bacillus thuringiensis*, uma bactéria de solo, gram-positiva, capaz de formar cristais contendo endotoxinas, proteínas com ação inseticida que atuam antes e durante a fase de esporulação do seu ciclo de vida. Formulações comerciais de *B. thuringiensis* contendo essas proteínas têm sido utilizadas no Brasil e em outros países para o controle de algumas pragas agrícolas há mais de 40 anos. Uma vez que *B. thuringiensis* é um microrganismo de solo, a exposição dos organismos vivos e do meio ambiente a essa bactéria ou a qualquer elemento extraído dela é um evento que ocorre abundantemente na natureza. A proteína *Cry1Ac* possui ação bastante específica e atua apenas por ingestão em algumas espécies de Lepidoptera. A proteína *NPTII* é produzida por vários microrganismos procarióticos encontrados de forma ubíqua no meio ambiente, tanto em habitats aquáticos e terrestres, como na microflora intestinal humana e animal. A proteína *AAD* não é expressa nos tecidos do algodão Bollgard evento 531. O algodão geneticamente modificado evento 531 não apresentou alteração morfológica, fenológica ou de arquitetura da planta. Não houve efeito da inserção gênica na qualidade das fibras. Com exceção da tolerância a insetos-alvo ao

longo da safra, as plantas de Algodão Bollgard evento 531 demonstraram equivalência em todas as características fenotípicas e agrônômicas em relação ao padrão demonstrado pela linhagem parental não transformada e por outras variedades utilizadas em produção comercial. A análise dos documentos apresentados permite concluir que o cultivo do algodão Bollgard evento 531 não causará alterações no solo e suas relações ecológicas e funcionais diferentes daquelas causadas pelas variedades convencionais. Devido à especificidade de ação da proteína Cry1Ac sobre algumas espécies Lepidoptera, não se espera um efeito negativo direto sobre o terceiro nível trófico (inimigos naturais). Estudos realizados em outros países têm demonstrado que não há efeito adverso da proteína Cry1Ac sobre os inimigos naturais. Mesmo após quase 10 anos de uso do algodão Bollgard evento 531 em outros países, até o momento não há relatos de evolução de resistência de qualquer praga às toxinas de *B. thuringiensis* no campo. A proteína NPTII degrada-se rapidamente, como as outras proteínas encontradas nos tecidos vegetais e não é tóxica para os seres vivos. A resistência à canamicina e neomicina, conferida pelo gene nptII, é presença ubíqua nos microrganismos, e não há evidência de transferência gênica da planta para bactérias. Portanto, a ocorrência de transferência gênica horizontal representa um risco mínimo nos cultivos de algodão Bollgard evento 531. Estudos no Centro Oeste brasileiro revelaram que as taxas de cruzamentos obtidas no meio das grandes lavouras foram sempre baixas, com médias variando entre 3,9% e 4,3%. As taxas de cruzamento em plantios com 10 e 15 m de rua foram de 0% e o fluxo gênico do algodão Bollgard evento 531 para o algodão convencional foi de 0,85% nas bordaduras do algodão geneticamente modificado. Estudos em outros países demonstraram que a probabilidade de transferência gênica de um campo com algodão Bollgard evento 531 para um campo com algodão convencional ou silvestre é muito baixa e tende a zero em distâncias superiores a 15 m. A redução no uso de inseticidas promovida pelo uso de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos apresenta repercussões positivas em outros aspectos relacionados à obtenção, distribuição e uso destes defensivos agrícolas, reduções significativas na poluição provocada por rejeitos industriais, reduções no uso de água a ser utilizada nas pulverizações e nos custos empresariais e ambientais decorrentes do transporte e armazenamento de inseticidas. As plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos colaboram para que se diminua a produção e o acúmulo de embalagens de agrotóxicos. Os estudos realizados não mostraram alterações nos principais componentes e nos antinutrientes naturais presentes no algodão. A segurança dos produtos alimentares do algodão Bollgard evento 531 foi determinada pela equivalência na composição de macro e micronutrientes em estudos de salubridade com animais e concluiu-se que este produto, como componente de ração animal e as proteínas Cry1Ac e NPTII expressas nos tecidos da planta se mostrou seguro e com valor nutritivo equivalente para o consumo humano e animal. As análises de qualidade e composição do caroço de algodão Bollgard evento 531 mostraram que as propriedades do algodão geneticamente modificado e suas frações processadas foram comparáveis às do algodão convencional. Concluiu-se que apesar da ausência das proteínas nos produtos alimentares, o modo de ação, a especificidade e o histórico exposição, a ausência de

similaridade com proteínas alergênicas e tóxicas, a rápida digestão em fluidos gástrico e intestinal simulados, assim como a falta de toxicidade oral aguda em animais, o algodão Bollgard evento 531 expressando as proteínas Cry1Ac e NPTII demonstra segurança para consumo humano e animal equivalente ao algodão convencional. Além disso, foi demonstrado em outros países que a redução do uso de inseticidas provocou uma diminuição significativa no número de intoxicações de agricultores. Diante do exposto, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio após a análise de biossegurança do algodão Bollgard evento 531, processo 01200.001471/2003-01, delibera favoravelmente à sua liberação para plantio comercial e consumo humano e animal, mediante as condicionantes: (i) a Monsanto do Brasil Ltda., empresa detentora da tecnologia Bollgard, deverá fornecer as seqüências dos iniciadores (primers) para detecção de evento específico aos órgãos de registro e fiscalização; (ii) respeitar as zonas de exclusão para o plantio de algodão geneticamente modificado, conforme proposto por Barroso e Freire (2004) e definir e limitar a época de plantio do algodão Bollgard evento 531 nas diferentes regiões produtoras de algodão, principalmente em localidades com cultivos de algodão safrinha; (iii) deverão ser preconizadas áreas de refúgio com cultivares não transgênicas de algodão correspondentes a 20% da área a ser cultivada com o algodão Bollgard evento 531, localizadas a distâncias inferiores a 800 m; (iv) adotar práticas de manejo conservacionista da cultura do algodoeiro, tais como a destruição da soqueira, a queima para controle de doenças, a rotação de culturas, o emprego de culturas armadilhas e o controle biológico. Aos órgãos de fiscalização competentes cabe garantir o cumprimento das exigências contidas no Parecer Técnico Prévio Conclusivo, principalmente aquelas relativas às áreas de refúgio e zonas de exclusão. Não há restrições ao uso do OGM em análise e seus derivados, desde que obedecidas as exigências contidas no Parecer Técnico Prévio Conclusivo. Assim sendo, a CTNBio considera que essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente e da saúde humana.

No âmbito das competências do art. 1º D da Lei 8974/95, a CTNBio considerou que o protocolo experimental e as demais medidas de biossegurança propostas atendem às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

PARECER TÉCNICO PRÉVIO CONCLUSIVO DA CTNBIO FUNDAMENTAÇÃO TÉCNICA

I. Identificação do OGM

Designação do OGM: Algodão Bollgard□ Evento 531

Requerente: Monsanto do Brasil Ltda.

Espécie: *Gossypium hirsutum* – algodão

Característica Inserida: resistência às principais pragas da Ordem Lepidoptera (curuquerê-do-algodoeiro, lagarta-rosada e lagarta-da-maçã)

Método de introdução da característica: transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*

Uso proposto: produção de fibras têxteis, semente de algodão para ração animal e óleo de semente de algodão para consumo humano.

II. Informações Gerais

A Monsanto do Brasil Ltda. solicita à CTNBio parecer técnico conclusivo sobre a biossegurança do organismo geneticamente modificado – OGM designado “Algodão Bollgard Evento 531”, para fins de liberação comercial no Brasil. O referido OGM resiste às principais pragas da Ordem Lepidoptera que afetam a cultura do algodão no Brasil, como o curuquerê-do-algodão (*Alabama argillacea*), a lagarta-rosada (*Pectinophora gossypiella*) e a lagarta-da-maçã (*Heliothis virescens*).

O algodão (*Gossypium* spp.) é uma das principais culturas utilizadas para a produção de fibras no mundo, sendo uma das cadeias produtivas mais importantes do Brasil. As principais regiões produtoras de algodão do País são os Estados de Mato Grosso, Goiás, Bahia, Mato Grosso do Sul, Ceará, São Paulo, Minas Gerais e Paraná. É uma cultura conhecida por sofrer danos severos por ocorrência de pragas, plantas daninhas e doenças.

Entre as principais pragas do algodão no Brasil, destacam-se o curuquerê (*Alabama argillacea*), a lagarta-da-maçã (*Heliothis virescens*), a lagarta-rosada (*Pectinophora gossypiella*), a lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*), o pulgão (*Aphis gossypii*), o percevejo rajado (*Horcias nobilellus*) e o bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*). O controle dessas pragas tem sido realizado principalmente com o uso de inseticidas. No Brasil, são consumidas anualmente mais de 10 toneladas de inseticidas somente na cultura do algodão, onerando os custos de produção em torno de US\$ 190 milhões. O uso excessivo de inseticidas não-específicos leva a impactos ambientais negativos, como a redução severa da população de organismos benéficos e a potencialização do surgimento de pragas resistentes aos inseticidas convencionais.

As espécies de algodão cultivadas comercialmente no Brasil são *Gossypium hirsutum* e em menor área *G. barbadense*. *G. hirsutum* possui maior adaptabilidade, alta produtividade e é predominante no mundo. Sua fibra é utilizada na produção de fibra têxtil, de outros produtos não têxteis e é fonte de celulose industrial para diversos produtos. *G. barbadense* é importante pela qualidade e comprimento da fibra e é usado na produção de tecidos finos.

O Algodão Bollgard evento 531 foi geneticamente modificado a partir da transformação da variedade comercial Coker 312 com o vetor PV-GHBK04, por meio do sistema mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. A transformação inseriu os genes *cry1Ac*, *nptII* e *aad* no genoma dessa variedade de algodão.

As pesquisas para a avaliação da eficácia e desempenho agrônomico com Algodão Bollgard no Brasil foram realizadas nas safras 1997/1998 e 1999/2000, nas regiões de Goiatuba e Edéia (GO), Ituverava e Santa Cruz das Palmeiras (SP), Rondonópolis (MT) e Capinópolis (MG). Outros estudos para a avaliação da eficácia do Algodão Bollgard contra algumas espécies praga foram realizados em casa-de-vegetação. Os estudos comprovaram a eficácia do Algodão Bollgard no controle do curuquerê-do-algodoeiro

(Alabama argillacea), da lagarta-das-maçãs (*Heliothis virescens*) e da lagarta-rosada (*Pectinophora gossypiella*).

O Algodão Bollgard constitui-se numa tecnologia avançada e de grande interesse para o Brasil, onde pragas de lepidópteros causam grandes perdas de produção e para seu controle aplicam-se enormes quantidades de inseticidas. A adoção dessa tecnologia pode reduzir o uso de cerca de um milhão de litros de inseticidas no país a cada ano, elevar a produtividade e reduzir os custos de produção.

III. Descrição do OGM

O algodão geneticamente modificado desenvolvido pela Monsanto do Brasil Ltda., designado Algodão Bollgard Evento 531, foi gerado pelo uso da técnica de transformação indireta via *Agrobacterium tumefaciens*, técnica consagrada e uma das mais utilizadas na obtenção de plantas geneticamente modificadas. *A. tumefaciens* é uma bactéria gram-positiva, encontrada no solo e causadora de tumor em plantas.

O mecanismo de inserção dos genes de *A. tumefaciens* na planta hospedeira é praticamente todo conhecido. Em *A. tumefaciens* selvagens, a existência do plasmídeo Ti permite à bactéria inserir parte de seu genoma (região T-DNA) no genoma da planta. Ao desvendar esse mecanismo, os cientistas, utilizando técnicas de biologia molecular, retiraram os genes indutores de tumor da região T-DNA do plasmídeo Ti e os substituíram por genes de interesse. A especificidade do mecanismo em transferir somente as seqüências entre a borda direita e a borda esquerda da região T-DNA torna a estratégia de transformação bastante segura no sentido de que outras seqüências da bactéria mediadora do processo não sejam transferidas.

Esse processo resultou na introdução estável de três genes no genoma de uma variedade algodão convencional, Coker 312 com o vetor binário PV-GHBK04. Os elementos componentes da construção do vetor compreendem, além dos genes de interesse, seqüências normalmente utilizadas na construção de vetores de expressão pela comunidade científica especializada, tais como genes de origem de replicação, genes promotores e terminadores da transcrição.

O algodão Bollgard evento 531 possui três insertos originados durante o processo de transformação: o gene *cry1Ac*, que codifica a proteína Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*; o gene *nptII*, que codifica a Neomicina Fosfotransferase tipo II – NPTII que confere resistência aos antibióticos canamicina e neomicina; e o gene *aad*, que codifica a proteína 3''(9)-O-aminoglicosídeo adenililtransferase. A proteína Cry1Ac possui homologia de 99,4% com a proteína de *B. thuringiensis*, apresentando alta especificidade de ação sobre algumas espécies praga da ordem Lepidoptera. Os genes *nptII* e *aad* foram os marcadores de seleção de células transformadas com o gene *cry1Ac* na fase *in vitro*. Somente os genes *cry1Ac* e *nptII* são expressos no Algodão Bollgard evento 531. O gene *aad* é controlado por um promotor bacteriano e a proteína AAD não é detectada no tecido do OGM.

Análises moleculares (“Southern Blot”, Reação da Polimerase em Cadeia – PCR, clonagem de cosmídeos, seqüenciamento de DNA e “genome walking”) demonstraram que o DNA entre a borda esquerda e a borda direita do vetor PV-GHBK04 foi inserido em dois

locais no genoma do algodão, separados por DNA genômico da planta. Somente uma inserção é funcional por possuir o cassete completo para expressão do gene cry1Ac. A segunda corresponde a um segmento pequeno, sem atividade funcional, que apresenta segregação independente em cruzamentos convencionais. Os resultados de retrocruzamentos, inclusive com variedades tropicais, são consistentes com a inserção do gene cry1Ac funcional em um único locus, mantendo sua integridade durante várias gerações.

Um vez que o algodão Bollgard evento 531 estiver liberado para uso comercial, os órgãos de fiscalização e registro deverão ter acesso a informações que permitam a diferenciação do evento 531 entre outros eventos de outras plantas e matérias-primas não geneticamente modificadas. Assim, as informações das seqüências de DNA dos genes inseridos no algodão Bollgard evento 531 e as seqüências iniciadoras (primers) para uso na técnica de PCR que identificam especificamente esse evento devem estar disponibilizados aos órgãos de fiscalização e registro.

IV. Proteínas Expressas

A proteína Cry1Ac é proveniente de *Bacillus thuringiensis*, uma bactéria de solo, gram-positiva, inicialmente isolada no Japão por Ishiwata e descrita formalmente por Berliner em 1915. Esse microrganismo forma cristais contendo endotoxinas, proteínas com ação inseticida que atuam antes e durante a fase de esporulação do seu ciclo de vida.

Formulações comerciais de *B. thuringiensis* contendo essas proteínas têm sido utilizadas no Brasil e em outros países para o controle de algumas pragas agrícolas há mais de 40 anos. Uma vez que *B. thuringiensis* é um microrganismo de solo, a exposição dos organismos vivos e do meio ambiente a essa bactéria ou a qualquer elemento extraído dela é um evento que ocorre abundantemente na natureza.

Os cristais de diferentes linhagens de *B. thuringiensis* podem conter uma série de diferentes proteínas que possuem ação inseticida, tóxicas para diferentes grupos de insetos. Entre as toxinas, destacam-se as conhecidas proteínas Cry ou δ -endotoxinas. A proteína Cry1Ac possui ação bastante específica e atua apenas por ingestão em algumas espécies de Lepidoptera. Em geral, o mecanismo de ação das proteínas Cry consiste de três principais passos: a) solubilização e ativação do cristal no intestino médio do inseto; b) ligação da toxina ativada a receptores específicos; e c) inserção da toxina ativada na membrana apical do intestino médio para criar canais ou poros iônicos.

A proteína NPTII é produzida por vários microrganismos procarióticos encontrados de forma ubíqua no meio ambiente, tanto em habitats aquáticos e terrestres, como na microflora intestinal humana e animal. O gene nptII, utilizado em transformação de plantas, é derivado do transposon Tn5 de *Escherichia coli*, uma enterobactéria presente na flora intestinal do homem. O modo de ação da proteína NPTII é bem caracterizado e culmina com a inativação de antibióticos como a neomicina, a gentamicina A e as canamicinas A, B e C. A proteína NPTII é degradada no sistema gastrointestinal de humanos e animais.

A expressão das proteínas Cry1Ac e NPTII foi determinada em folhas e sementes do Algodão Bollgard evento 531 por meio da técnica ELISA, em experimentos de campo

conduzidos durante a safra 1999/2000 em Edéia (GO), Capinópolis (MG), Rondonópolis (PR) e Ituverava (SP). Os níveis médios da proteína Cry1Ac em folhas coletadas 20 e 130 dias pós-plantio da linhagem DP90B (derivada do algodão Bollgard evento 531) foram 2,93 μ g e 3,02 μ g de proteína por grama de tecido fresco, respectivamente. Em sementes, o nível médio em todos os locais foi de 1,83 μ g de proteína por grama de tecido fresco. Os níveis médios da proteína NPTII em folhas coletadas 20 e 130 dias pós-plantio da linhagem DP90B foram 5,57 μ g e 9,55 μ g de proteína por grama de tecido fresco, respectivamente. Em sementes, a média em todos os locais foi de 6,88 μ g de proteína por grama de tecido fresco.

V. Características Agronômicas

As avaliações de campo com o Algodão Bollgard evento 531 realizadas nas regiões produtoras de algodão no Brasil, demonstraram que não há diferenças significativas nas características morfológicas e no desempenho agrônômico em relação à linhagem parental não transformada Coker 312. Foram avaliados os seguintes parâmetros: eficácia no controle de insetos-alvo ao longo da safra; características morfológicas de crescimento e desenvolvimento da planta como germinação, vigor da planta, florescimento, número e tamanho de capulhos; susceptibilidade a pragas e doenças; rendimento; qualidade da fibra como comprimento, micronaire (finura e teceabilidade da fibra), resistência e alongamento do fio; e composição dos grãos, em que foram avaliados proteínas, gorduras, fibras, carboidratos, aminoácidos, resíduos minerais, teor calórico, lipídios, ácidos graxos, α -tocopherol, gossipol e aflatoxinas.

Os resultados das pesquisas realizadas no Brasil são similares aos observados em outros países. Os níveis de postura dos insetos pragas *A. argillacea*, *P. gossypiella* e *H. virescens* no algodão Bollgard evento 531 foram similares aos observados na linhagem parental não transformada. A proteína Cry1Ac expressa pelas plantas de algodão geneticamente modificado controlou e manteve a praga *P. gossypiella* dentro de níveis populacionais satisfatórios, mesmo em situações de alta pressão populacional. As pragas *A. argillacea* e *H. virescens* não apresentaram uma presença significativa ao longo do ciclo da cultura do Algodão Bollgard evento 531 nos experimentos avaliados. Os níveis de parasitismo observados nos ovos das espécies *A. argillacea* e *H. virescens* na linhagem geneticamente modificada mostraram que os parasitóides não foram afetados pelo efeito inseticida da proteína Cry1Ac, comparado com a linhagem parental não transformada.

As qualidades das fibras também foram avaliadas e não demonstraram qualquer efeito da inserção gênica. Dados sobre o comprimento, a uniformidade de comprimento, o índice micronaire, a resistência e o alongamento do fio obtidos do Algodão Bollgard evento 531 em produção comercial em outros países demonstram equivalência ou qualidade superior a fibras produzidas pela variedade parental Coker 312 e pelas variedades convencionais comercializadas.

A composição dos grãos do algodão geneticamente modificado mostrou equivalência no padrão de composição de grãos da variedade parental e das variedades comerciais.

Os estudos conduzidos indicaram ser possível uma diminuição do uso de inseticidas de amplo espectro em áreas de algodão nos países onde a tecnologia Bollgard já está disponível comercialmente.

Com exceção da tolerância a insetos-alvo ao longo da safra, as plantas de Algodão Bollgard evento 531 demonstraram equivalência em todas as características fenotípicas e agronômicas em relação ao padrão demonstrado pela linhagem parental não transformada e por outras variedades utilizadas em produção comercial. Assim sendo e dentro do contexto do Manejo Integrado de Pragas (MIP) na cultura do algodão, a tecnologia Bollgard pode ser inserida no mercado brasileiro com relativa facilidade.

VI. Aspectos Ambientais – Segurança Ambiental

A avaliação da segurança ambiental baseia-se na expressão dos genes funcionais e nível de proteína na planta, no modo de ação e especificidade das proteínas expressas, na abundância e comportamento desta no ambiente e no histórico de exposição e uso seguro das proteínas produzidas pela bactéria *B. thuringiensis*, tóxicas para lepidópteros pragas do algodoeiro.

Conforme relatado anteriormente, a proteína Cry1Ac é expressa nos tecidos da planta, com concentrações inferiores a 4 mg/g de tecido fresco nas folhas jovens e menos de 2 mg/g em sementes frescas. A concentração da proteína Cry1Ac na planta toda é da ordem de milionésimos a proteína total dos resíduos do algodoeiro. Estimativas apontam para uma quantidade de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* HD73 incorporada ao solo após a colheita inferior a 2 g/Acre, o que corresponderia a 0,5 mg/g de solo na camada arável. Estudos realizados na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo indicam que proteínas acima de 70 Kda são detectadas em restos vegetais nos campos e sofrem rápida ação proteolítica após a maturação dos frutos e no solo pela microbiota. Estes resultados corroboram outro estudo em amostras de solo de campos de algodão transgênico, em que testes empregando ELISA, método eficiente e sensível, e bioensaios de atividade mostram ausência de acúmulo de proteína em níveis biologicamente significativos. Diversos outros estudos mostraram que as proteínas Cry dissipam-se rapidamente no solo e, mesmo que haja acúmulo, essas proteínas são praticamente atóxicas para organismos não-alvo, conforme revelam diversos estudos *in vitro* ou com a adição de resíduos de plantas GM ao solo. Testes com concentrações de proteínas de até 50 mg/g de solo não mostraram efeitos sobre o crescimento de lagartas. Do mesmo modo, populações de detritívoros como collembolas e minhocas, e componentes da microbiota como protozoários, nematóides, fungos, bactérias e actinomicetos são praticamente insensíveis à proteína Cry1Ac quanto aos aspectos reprodutivos e de crescimento. Outros estudos com técnicas experimentais mais refinadas mostram ausência de alteração na densidade microbiana de vários grupos especializados do solo, como bactérias diazotróficas e resistentes a antibióticos. Estudos empregando Ecoplates e análise molecular ARDRA, verificou-se que os efeitos do algodão Bollgard evento 531 na diversidade metabólica e genética da população de procariotos do solo, são similares ao do algodão convencional. A análise dos documentos apresentados permite concluir que o cultivo do algodão Bollgard evento 531 não causará alterações no solo e

suas relações ecológicas e funcionais diferentes daquelas causadas pelas variedades convencionais.

Devido à especificidade de ação da proteína Cry1Ac sobre algumas espécies Lepidoptera, não se espera um efeito negativo direto sobre o terceiro nível trófico (inimigos naturais). Como a população de inimigos naturais é dependente da densidade da praga, se a população de uma determinada praga é controlada com algodão Bollgard evento 531, espera-se que a população de seus respectivos inimigos naturais, principalmente o de especialistas, tenderá a diminuir. Em geral, estudos realizados em outros países têm demonstrado que não há efeito adverso da proteína Cry1Ac sobre os inimigos naturais. Alguns estudos demonstraram que houve até aumento na biodiversidade com a utilização do algodão Bollgard evento 531. Isso se deve principalmente à redução do uso de inseticidas de amplo espectro.

A avaliação da toxicidade do pólen proveniente do algodão Bollgard evento 531 em abelhas *Apis mellifera*, realizada pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, não revelou efeitos adversos significativos.

Devido à expressão contínua das toxinas inseticidas, as plantas resistentes a insetos exercem uma elevada pressão de seleção sobre as populações de insetos praga que são alvos do controle. Mesmo após quase 10 anos de uso do algodão Bollgard evento 531 em outros países, até o momento não há relatos de evolução de resistência de qualquer praga às toxinas de *B. thuringiensis* no campo, a partir da exposição a plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos. Em diferentes países, os resultados das estratégias de manejo da resistência podem ser conferidos nos dados coletados através do monitoramento da susceptibilidade de populações de insetos praga às proteínas inseticidas Bt. Assim, a sustentabilidade das culturas Bt depende da adoção de programas adequados de liberação e manejo destas plantas no ambiente com o objetivo retardar ao máximo a evolução da resistência nos insetos. Dentre as conseqüências imediatas da resistência de insetos às proteínas inseticidas expressas pelas plantas Bt, tem-se a perda desta tecnologia no MIP. Além disso, existe a possibilidade de restrição ao uso de biopesticidas formulados à base de Bt e o aumento no uso de inseticidas convencionais. A principal estratégia de manejo adotada em outros países, tendo por alicerce a filosofia de Manejo Integrado de Pragas (MIP), foi a de “alta dose de toxina associada à área de refúgio”. As principais premissas dessa estratégia são a baixa freqüência inicial do alelo resistente; o padrão de herança recessiva para a resistência; a dose da proteína suficiente para ocasionar alta mortalidade de indivíduos suscetíveis e de heterozigotos; e a produção de indivíduos suscetíveis em áreas de refúgio localizadas a uma certa distância para possibilitar cruzamentos ao acaso. Baseado em modelo matemático de Caprio para simular a evolução da resistência, a proposta da empresa para a área de refúgio (plântio de algodão convencional) é de 20% área total cultivada com algodão Bollgard evento 531, para uma durabilidade da tecnologia de pelo menos 10 anos. A distância máxima recomendada entre a área de refúgio e a área de algodão Bollgard evento 531 é de 800 a 1500 m, dependendo da ocorrência ou não de *P. gossypiella* na área. Além da preservação da fonte de susceptibilidade de pragas ao cry1Ac nas áreas de refúgio, essas

áreas poderão servir também para a preservação de inimigos naturais específicos de pragas.

A proteína NPTII é expressa nas folhas do algodão Bollgard evento 531 em concentração mais elevada do que a Cry1Ac. Essa proteína degrada-se rapidamente, como as outras proteínas encontradas nos tecidos vegetais e não é tóxica para os seres vivos. Sua eventual expressão em outros organismos não implicará em alterações comportamentais, exceto na capacidade de tolerar os antibióticos aminoglicosados, como canamicina e neomicina.

A transferência do gene *nptII* da planta para microrganismos é possível do ponto de vista biológico, mas ocorre com uma frequência muito baixa em condições otimizadas e não há evidência desse fenômeno em condições reais de campo. Em procariotos, a transferência desse gene é feita por elementos móveis (plasmídeos e transposon conjugativo), os quais garantem ampla distribuição do gene entre espécies ou dentro da mesma espécie de procariotos. Por isso, a resistência a canamicina e neomicina é presença ubíqua nos microrganismos, mas não há evidência de transferência da planta para bactérias. Assim, a ocorrência de transferência gênica horizontal representa um risco mínimo nos cultivos de algodão Bollgard evento 531.

A transferência gênica vertical do algodão geneticamente modificado para cultivares convencionais e espécies silvestres sexualmente compatíveis é possível, principalmente por meio dos grãos de pólen, geralmente transportados por polinizadores. Estudos realizados pela Embrapa Algodão mostraram que um número relativamente pequeno de fileiras de algodão convencional usado como bordadura para o algodão geneticamente modificado (10 linhas) foi suficiente para conter o pólen do interior da parcela com plantas transgênicas, mesmo em locais onde as taxas de cruzamentos foram elevadas.

Estudos de avaliação da distância da dispersão do pólen e a frequência de cruzamento natural usando plantas marcadas com azul de metileno e marcadores moleculares mostraram que no Centro Oeste, as taxas de cruzamentos obtidas no meio das grandes lavouras foram sempre baixas, com médias variando entre 3,9% e 4,3%. As taxas de cruzamento em plantios com 10 e 15 m de rua foram de 0% e o fluxo gênico do algodão Bollgard evento 531 para o algodão convencional foi de 0,85% nas bordaduras do algodão geneticamente modificado.

Estudos conduzidos pela Embrapa Algodão tratam da distribuição geográfica desse vegetal no Brasil, sugerindo zonas de exclusão para os cultivos de algodão geneticamente modificado e apresentam as medidas adotadas pelos outros países onde há espécies silvestres de algodão para evitar escape do transgene para populações silvestres. Os dados apresentados não mostraram aspectos impactantes no meio ambiente do algodão transgênico. Dados sobre o potencial de transferência gênica entre o algodão Bollgard evento 531 e os parentes próximos e o algodão convencional na Austrália, Estados Unidos, Índia e Israel demonstraram que as características dos cruzamentos foram semelhantes em diferentes geografias e ambientes e que a probabilidade de transferência gênica de um campo com algodão Bollgard evento 531 para um campo com algodão convencional ou silvestre é muito baixa e tende a zero em distâncias superiores a 15 m.

A outra possibilidade de fluxo gênico é por meio de sementes, no qual a ação antrópica tem papel importante, pois a dispersão de sementes de algodão dificilmente ocorre a partir de sementes no campo, pois são grandes, cobertas com fibras e raramente transportadas por animais. No Brasil, a dispersão geralmente ocorre pelo uso indevido de caroços (sementes destinadas à alimentação animal ou à fabricação de óleos) como material propagativo e durante o transporte do algodão em plumas, caroços e sementes, além de misturas em algodoiras do Nordeste, que geralmente descarçam mais de uma cultivar por mês.

A redução do uso de inseticidas promovida pelo uso de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos apresenta repercussões positivas em outros aspectos relacionados à obtenção, distribuição e uso destes defensivos agrícolas. Na China, o algodão Bt tem sido cultivado desde 1997 com uma redução de 78.000 toneladas na quantidade de inseticidas utilizados em 2001. Foi observada a diminuição na taxa de exploração de matérias-primas utilizadas na fabricação de inseticidas, e por consequência, reduções significativas na poluição provocada por rejeitos industriais. Ainda podem ser relacionadas as reduções na água a ser utilizada nas pulverizações e nos custos empresariais e ambientais decorrentes do transporte e armazenamento de inseticidas. Por fim, as plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos colaboram para que se diminua a produção e o acúmulo de embalagens de agrotóxicos, que muitas vezes não possuem um destino final seguro no meio ambiente.

VII. Aspectos relacionados à Saúde Humana e dos Animais

A segurança das proteínas Cry1Ac e NPTII é baseada no conhecimento da biologia dos organismos que contêm os genes que codificam essas proteínas, na sua abundante ocorrência no meio ambiente, na função e no modo de ação das proteínas e no histórico de uso seguro.

A exposição de organismos vivos às proteínas Cry produzidas pelo *B. thuringiensis* é um evento que ocorre abundantemente na natureza e o modo de ação dessa proteína já é bem conhecido. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), em 1998, concluiu a partir do grande volume de dados de toxicologia submetidos que as subespécies de *B. thuringiensis* não são tóxicas ou patogênicas para mamíferos, incluindo seres humanos. Recentemente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) revisou os extensos bancos de dados de segurança e concluiu que o Bt não causa efeitos adversos na saúde humana quando presente na água potável ou nos alimentos.

A exposição dos organismos vivos à proteína NPTII também ocorre abundantemente na natureza, devido à prevalência de bactérias que produzem essa proteína. A segurança de NPTII foi avaliada pelo departamento de Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA) em 1994. Concluiu-se que essa proteína é segura para uso em alimentos. Para a OMS, não há razões para preocupações relativas à segurança de NPTII. Essa proteína não possui atividade pesticida ou inseticida e é produzida na planta com o único objetivo de promover um sistema eficiente de seleção de transformantes. A segurança de uma planta geneticamente modificada considera as novas proteínas expressas e a antecipação da intenção de uso e consumo dos produtos derivados da

planta em questão por seres humanos e animais. Para determinar a segurança alimentar de plantas geneticamente modificadas, o Princípio de Equivalência Substancial é usado como guia das avaliações. Este princípio estabelece que a planta geneticamente modificada deve ser tão segura quanto a sua contraparte convencional. As comparações focalizam substâncias que são relevantes do ponto de vista toxicológico, nutricional e de salubridade.

No caso do produto em questão, os estudos realizados não mostraram alterações nos principais componentes e nos antinutrientes naturais presentes no algodão. A segurança dos produtos alimentares do algodão Bollgard evento 531 foi determinada pela equivalência na composição de macro e micronutrientes em estudos de salubridade com animais e concluiu-se que este produto, como componente de ração animal e as proteínas Cry1Ac e NPTII expressas nos tecidos da planta se mostrou seguro e com valor nutritivo equivalente para o consumo humano e animal. Após o processamento das fibras e do caroço, as proteínas expressas pela planta não são detectadas. Como o óleo e as fibras processadas são os únicos produtos do algodão usados na alimentação humana e como vestuário, respectivamente, o consumo das proteínas não é esperado.

As análises de qualidade e composição do caroço de algodão Bollgard evento 531 mostraram que as propriedades do algodão geneticamente modificado e suas frações processadas foram comparáveis às do algodão convencional. Estudos realizados com animais (vacas leiteiras, bagres, codornas e ratos) mostraram que a qualidade nutricional do caroço do produto em questão foi a mesma daquela verificada no algodão convencional e que o desenvolvimento dos animais não foi alterado pela ingestão de qualquer dos materiais. Assim, apesar da ausência das proteínas nos produtos alimentares, o modo de ação, a especificidade e o histórico de exposição, a ausência de similaridade com proteínas alergênicas e tóxicas, a rápida digestão em fluidos gástrico e intestinal simulados, assim como a falta de toxicidade oral aguda em animais, o algodão Bollgard evento 531 expressando as proteínas Cry1Ac e NPTII demonstra segurança para consumo humano e animal equivalente ao algodão convencional.

Adicionalmente, com a diminuição do uso de inseticidas na China, em 2001, foi registrada a diminuição em até 75% nos casos de intoxicação de produtores rurais por inseticidas. De modo semelhante, o algodão Bt tem auxiliado os agricultores da África do Sul no MIP das lavouras, resultando em redução no uso de inseticidas, assim como nos índices de intoxicação de trabalhadores e no custo de produção da cultura.

VIII. Conclusão

Diante do exposto, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio após a análise de biossegurança do algodão Bollgard evento 531, processo 01200.001471/2003-01, delibera favoravelmente à sua liberação para plantio comercial e consumo humano e animal, mediante as condicionantes abaixo discriminadas.

A Monsanto do Brasil Ltda., empresa detentora da tecnologia Bollgard, deverá informar as seqüências de DNA dos genes inseridos no algodão Bollgard evento 531 e as seqüências iniciadoras (primers) para uso na técnica de PCR que identificam especificamente esse evento aos órgãos de fiscalização e registro.

Além de respeitar as zonas de exclusão para o plantio de algodão geneticamente modificado para conter o fluxo gênico, conforme proposto por Barroso e Freire (2004), há também necessidade de definição e limitação da época de plantio do algodão Bollgard evento 531 nas diferentes regiões produtoras de algodão, principalmente em localidades com cultivos de algodão safrinha, a fim de que o período de exposição das pragas ao Cry1Ac seja o menor possível.

Deverão ser preconizadas áreas de refúgio com cultivares não transgênicas de algodão correspondentes a 20% da área a ser cultivada com o algodão Bollgard evento 531, localizadas a distâncias inferiores a 800 m. Entretanto, poderá haver necessidade de revisar a área de refúgio quando a área total de cultivos Bt (algodão e milho ou somente algodão no caso de não liberação para uso comercial de milho Bt) atingir 50% da área cultivada em uma determinada região. Isso se deve ao fato de, apesar de *S. frugiperda* não ser considerado praga-alvo de controle com algodão Bollgard evento 531, há relatos na literatura de baixa atividade tóxica de Cry1Ac contra essa espécie e a resposta à pressão de seleção para maior tolerância à Cry1Ac. Adicionalmente, há relatos na literatura sobre a similaridade genética entre populações de *S. frugiperda* provenientes das culturas de algodão e milho. Caso o milho geneticamente modificado que expressa a proteína Cry1Ab seja liberado comercialmente, a pressão de seleção a favor da resistência será ainda maior em uma determinada região, pois há relatos de resistência cruzada entre Cry1Ac e Cry1Ab (similaridade de ação). Isso poderia ser evitado com aumento da área de refúgio.

Além dos aspectos específicos abordados, é importante considerar as diversas práticas preconizadas no plano de manejo da cultura do algodoeiro. Além das já mencionadas zonas de exclusão e áreas de refúgio, exige-se a destruição da soqueira, a queima para controle de doenças, a rotação de culturas, o emprego de culturas armadilhas e o controle biológico.

Aos órgãos de fiscalização competentes cabe garantir o cumprimento das exigências contidas nesse parecer, principalmente, aquelas relativas às áreas de refúgio e zonas de exclusão.

Não há restrições ao uso do OGM em análise e seus derivados, desde que obedecidas as exigências contidas neste parecer técnico prévio conclusivo. Assim sendo, a CTNBio considera que essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente e da saúde humana.

Jorge Almeida Guimarães
Presidente da CTNBio