

Processo nº: 01200.003267/2007-40

Requerente: Monsanto do Brasil Ltda.

CNPJ: 64.858.525/0001-45

Endereço: Av. das Nações Unidas, 12901 – 7º andar – Centro Empresarial das Nações Unidas (CENU) – Torre Norte – Brooklin Novo. 04578–000 – SÃO PAULO – SP

Assunto: Liberação Comercial de Algodão Geneticamente Modificado resistente a insetos

Extrato Prévio: 1075/2007, publicado em 28/06/2007

1. Identificação do OGM

Designação do OGM: Algodão Bollgard II

Espécie: *Gossypium hirsutum*

Característica Inserida: Resistência a certos insetos praga

Método de introdução da característica: transformação de plantas por aceleração de partículas

Uso proposto: liberação no meio ambiente, comercialização, consumo e quaisquer outras atividades relacionadas a esse OGM e seus derivados

2. Proteínas Expressas

Cry1Ac – confere resistência a insetos

NPTII – neomicina fosfotransferase tipo II; marcador de seleção de plantas transformadas

Cry2Ab2 – confere resistência a insetos

GUS – β -D-glucoronidase; marcador de seleção de células transformadas

3. Área de Restrição Ambiental

O Nordeste do Brasil é o centro de origem de *Gossypium mustelinum*, *G. hirsutum* é considerado exótico no Brasil, visto que seu centro de origem são as áreas mais áridas da América Central. A Portaria nº 21 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, publicada no Diário Oficial da União em 16 de fevereiro de 2006, oficializa as Zonas de Exclusão para o plantio de sementes ou caroços de algodão herbáceo (*G. hirsutum*) geneticamente modificado ou de algodão herbáceo convencional com traços de eventos de transformação genética.

No Brasil, são encontradas algumas espécies nas formas silvestres (selvagem ou asselvajada). *G. mustelinum* que tem o centro de origem no Nordeste do Brasil. *G. hirsutum* var. *marie galante* não possui centro de origem no Brasil, mas sua distribuição é ampla, sendo encontrada no Nordeste semi-árido, onde foi bastante cultivada, conhecida como algodoeiro “mocó” ou arbóreo. Essa raça possui distribuição sobreposta com *G. barbadense* e *G. mustelinum*, o que possibilita o fluxo gênico entre essas espécies, que são cultivadas no

Nordeste e no Norte do Brasil. *G. barbadense* possui duas variedades encontradas no Brasil na forma semidomesticada (Rim-de-Boi e Inteiro). Ambas são arbóreas, perenes e adaptadas a altitudes acima de 600 m na região semi-árida ou em áreas próximas ao litoral. Esse algodoeiro desenvolve-se não apenas em áreas de cerrado mas também em terras mais baixas no semi-árido nordestino, por apresentarem precipitação insuficiente para o desenvolvimento da planta (Freire, 2000).

4. Observações da Secretaria Executiva:

Em 12/05/2008, a Monsanto do Brasil Ltda. protocolou na Secretaria Executiva da CTNBio a adequação à RN05.

5. Fundamentação Técnica:

O objeto de análise para liberação comercial é um novo evento geneticamente modificado, o algodão MON 15985 (também designado algodão Bollgard® II), através da técnica de transformação de plantas por aceleração de partículas, esse novo evento de transformação é resultante da transformação do algodão Bollgard® (variedade DP50B) com o plasmídeo PV-GHBK11 para a introdução dos genes *cry2Ab2* (que confere resistência a insetos) e *uidA* em seu genoma. O plasmídeo PV-GHBK11 foi linearizado e o fragmento contendo os genes *cry2Ab2* e *uidA*, além de seus elementos regulatórios (designado PV-GHBK11L) foi inserido no genoma do algodão Bollgard®. Este, por sua vez, foi gerado pela transformação genética da variedade convencional de algodão Coker 312 através da metodologia mediada por *Agrobacterium tumefaciens* utilizando o vetor PV-GHBK04. Os genes inseridos no algodão Bollgard® foram o *cry1Ac* (que confere resistência a insetos), o *nptII* (que funciona como marcador de seleção de plantas transformadas) e o *aad* (que funciona como marcador de seleção de bactérias transformadas no processo de clonagem do plasmídeo de interesse). Entretanto, como o promotor do gene *aad* somente se expressa em células procarióticas, o algodão Bollgard® expressa segundo informações da proponente apenas as proteínas Cry1Ac e NPTII. Assim, a transformação do algodão Bollgard® gerou o algodão MON 15985, objeto deste documento, que passa a conter, além dos genes exógenos *cry1Ac*, *nptII* e *aad* já introduzidos na variedade parental, os genes *cry2ab2* e *uidA*. O algodão MON 15985 expressa, portanto, as proteínas heterólogas Cry1Ac, NPTII (estas também expressas no algodão Bollgard®), Cry2Ab2 e GUS.

A empresa solicitante informa que em relação ao algodão Bollgard®, o algodão MON 15985 confere controle equivalente ou superior das principais pragas da cultura do algodão no Brasil (curuquerê-do-algodoeiro) [*Alabama argillacea*], lagartas-das-maçãs [*Heliothis virescens* e *Helicoverpa zea*] e lagarta rosada [*Pectinophora gossypiella*] com o controle adicional da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*).

SEGURANÇA AMBIENTAL

Área de restrição ambiental

Barroso et al(2005) apresenta um minucioso estudo propondo áreas de exclusão para o cultivo de algodoeiros transgênicos, que incluem regiões do nordeste, Amazônia incluindo todos os estados da região Norte e parte da Amazônia legal dos estados do Mato Grosso e Maranhão, o Pantanal abrangendo os municípios do Pantanal dos estados do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul.

Cabe aqui uma indagação, como a área de previsão de expansão da cultura aponta para as áreas de Cerrado (Mato Grosso) e também no Nordeste, que são áreas de exclusão ou de restrição de plantio, como serão controladas estas áreas em relação ao algodão GM, ou qual a garantia da preservação deste material genético, inclusive com fonte de genes resistente à seca ?

Sabe-se também que além do algodoeiro herbáceo, mais três outros algodoeiros ocorrem no Brasil, todos alotetraplóides e, portanto, sexualmente compatíveis com os cultivares comerciais.

Potencial de segurança horizontal

Informações fornecidas pela interessada apontam que “A taxa de cruzamento natural detectada no Brasil tem variado de 1% a 100% no Nordeste e de 0% a 71% no Centro-Oeste. Taxas de cruzamento diferentes em regiões próximas são explicadas pela presença de matas nativas e de insetos polinizadores, principalmente abelhas produtoras de mel. É importante enfatizar que os índices de cruzamentos nas lavouras do cerrado sempre foram baixos, isto é, em torno de 6%. Mas, nas regiões de cerrado, com grande ocorrência de vegetação nativa, as taxas variam de 19% a 42%, e nas áreas cultivadas por pequenos agricultores, os índices são mais elevados (45% a 69%) em razão da preservação das matas e da alta população de abelhas (Freire, 2002) . Estes dados apontam para um grande potencial de risco de

transferência gênica horizontal . Fato que já foi relatado no relatório “Registros de Contaminação Transgênica 2007” (www.gmcontaminationregister.org) inclui em seus 39 casos de contaminação também o algodão.

A transferência gênica por abelhas é um fato que deve ser atentamente monitorado, pois elas tem sua área de forrageamento que pode chegar até a 3.000 m no caso de *Apis mellífera* . Atente-se ao fato de que a produção de mel de boa qualidade tem sido uma fonte de renda importante para a agricultura familiar em várias regiões nordestinas e que apresenta uma tendência de expansão.

Quando se imagina uma propriedade onde haja uma grande agrobiodiversidade, e onde existam as áreas de APPs e RLs, e material nativo de algodão, a presença de polinizadores é certamente maior e com ela a chance de transferência gênica horizontal, importando em risco emiente de contaminação horizontal.

Pesquisadores do INTA, (GONZALES et al 2005) na Argentina, chegaram a comprovar a existência altos valores de contaminação com Bt nos cultivares convencionais de algodão do INTA, tanto para os valores médios de todas as áreas amostradas (6,5%) como pela quantidade de processadoras avaliadas(71,4%) e pelo número de amostras que apresentavam contaminação (56,3%) Chegaram a comprovar existência altos valores de contaminação com Bt nos cultivares convencionais de algodão do INTA, tanto para os valores médios de todas as áreas amostradas (6,5%) como pela quantidade de processadoras avaliadas(71,4%) e pelo número de amostras que apresentavam contaminação (56,3%) Ver a figura a seguir:

Tabla 1. Porcentaje de Contaminación Bt por provincia muestreada.

Provincia	Desmotadoras	Nº total de plantas analizadas	Plantas transgênicas	% de Contaminación
Corrientes	A	64	0	0
Santa Fe	B	62	0	0
Chaco	C, D	130	5	3.85
Santiago del Estero	E, F	119	2	1.68
Formosa	G	68	6	8.82
Córdoba	H	214	26	12.15

“A avaliação de segurança é focada na (i) presença e características das novas proteínas expressas e outros novos constituintes, e possíveis alterações no nível de constituintes naturais além da variação natural, e nas características do alimento e da ração GM, e (ii) possível ocorrência de efeitos não intencionais (inesperados) em plantas GM devido à modificação genética.

Para identificar esses efeitos, uma análise fenotípica e molecular comparativa da planta GM e sua contra-parte quase isogênica é realizada, em paralelo com a análise de componentes individuais específicos, a qual representa importantes vias metabólicas na planta como macro e micronutrientes, e toxinas e anti-nutrientes conhecidos”.

Afirmações como a colocada a seguir de que “ Os dados de Estudos de 90 dias realizados para avaliar a toxicidade subcrônica de formulações microbianas de *Bacillus thuringiensis* mostraram ainda NOAELs de 4.000 mg/kg (produto: Teknar) e 8.400 mg/kg (produto: Dipel) (Betz et al., 2000; Hammond e Cockburn, 2008), não são argumentos compatíveis quando se compara formulações como o Dipel, que não liberam as toxinas no trato digestivo destes mamíferos, com as proteínas disponíveis nas plantas com as em discussão.

Trabalhos de Kroghsbo *et al*, (2007) V Fierros *et al.*,(2002); Vazquez *et al.*, (1999) Vazquez-Padron *et al.*, (2000) demonstraram que algumas proteínas Cry podem estimular uma resposta imune. E alguns efeitos só podem ser são observados após várias gerações da cultura, o que exige avaliações nestas condições para poder avaliar a ausência de risco.

Trabalhos científicos têm evidenciando o aparecimento de resposta imune em células do intestino de ratos, e outros mamíferos inclusive em trabalhadores expostos a inseticidas a base de Bt., tornam a liberação de plantas com este potencial de risco à saúde humana no mínimo uma atitude irresponsável. (Bernstein, et al 1999; Pusztai a et al 2006) .

O histórico de **uso seguro** , e **disponibilidade na natureza** também não cabe nesta argumentação uma vez que se tratam de fatos não comparáveis pelos motivos já expostos. Os dados apontados na tabela 70 para caracterizar o grau de toxicidade, os 14 trabalhos descritos são todos com formulações comerciais, que não contem as proteínas livres, mas em estruturas de resistência ou seja o esporo da bactéria , que comprovadamente liberam as toxinas em pH básico, característico de insetos, diferentemente do trato digestivo dos animais usados para a avaliação.

A avaliação da segurança das proteínas Cry1Ac e Cry2Ab2 incluiu: caracterização das proteínas; ensaios de digestão simulada em fluidos gástrico e intestinal; estudos de toxicidade

oral aguda em camundongos; avaliações de bioinformática; estudos dos efeitos das proteínas sobre organismos não-alvo; e estudos nutricionais com animais.

ESTUDOS DE CAMPO CONTROLE DAS PRAGAS

A empresa solicitante informa que em relação ao algodão Bollgard®, o algodão MON 15985 confere controle equivalente ou superior das principais pragas da cultura do algodão no Brasil (curuquerê-do-algodoeiro) [*Alabama argillacea*], lagartas-das-maçãs [*Heliothis virescens* e *Helicoverpa zea*] e lagarta rosada [*Pectinophora gossypiella*] com o controle adicional da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*).

1

Segundo a solicitante, a combinação das proteínas Cry2Ab2 e Cry1Ac proporcionaria uma ferramenta adicional para o manejo de resistência de pragas à proteína Cry1Ac, pois a Cry2A é uma classe de proteína oriunda de *Bacillus thuringiensis* diferente da Cry1Ac.

No entanto a própria empresa admite a ocorrência de resistência de insetos ao algodão cuja liberação é solicitada, uma vez que já preconiza medidas que devem ser implementadas quando for instalado o plantio comercial.

“Portanto Espera-se que o plantio do algodão MON 15985, em combinação com a adoção de componentes de manejo de resistência de insetos, reduza de forma significativa ou elimine o potencial para aparecimento de insetos resistentes à proteína Cry1Ac expressa no algodão Bollgard®.

O algodão MON 15985 segundo relatório da solicitante, encontra-se agronomicamente dentro do intervalo normal de variabilidade observado em variedades convencionais de algodão para todos os parâmetros medidos, exceto para o controle de insetos, justamente o que era a diferença esperada.

Eficácia no controle de pragas

Os experimentos conduzidos a campo são relatados quanto ao delineamento experimental e espaçamento. **Mas não informa os produtos comerciais que foram utilizados para a cultura do algodoeiro** “(fungicidas, acaricidas, reguladores de crescimento, etc.) foram aplicados de acordo com as recomendações do fabricante. Os insetos pragas, exceto as lagartas (lepidópteros), foram controlados com a pulverização de produtos comerciais registrados para a cultura do algodoeiro, de acordo com o nível de dano levantado no Monitoramento Integrado de Pragas (MIP)”.

Sabe-se que é importante o relato de princípios ativos dos produtos utilizados em experimentos, uma vez que auxiliam na discussão da sua avaliação, e podem influenciar os resultados.

A presente solicitação de liberação comercial do algodão Bollgard II® é baseada em três experimentos de campo conduzidos nas Estações Experimentais da Monsanto localizadas em: a) Santa Cruz da Palmeiras-SP; b) Sorriso-MT e c) Santa Helena de Goiás-GO, e apenas na safra 2005/2006.

Foi informado que no caso de *Spodoptera frugiperda*, devido à baixa infestação dessa praga não foi possível a avaliação da eficácia de Bollgard II® a partir de infestações naturais em nenhuma das três áreas experimentais, fato extremamente comprometedor, uma vez que este inseto está se tornando uma praga importante em lavouras de algodão notadamente em locais onde o milho também é cultivado em extensas áreas, e a infestação com insetos provenientes de criação de laboratório não estariam sujeitos à possível pressão de resistência ao Bt.

Análise dos experimentos de controle de pragas

A empresa informa que “ Os dados foram submetidos à análise de variância e determinação de significância estatística pelo teste F. As diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Em algumas situações os dados experimentais foram transformados por $\text{Log}(x + 1)$ ou pela raiz quadrada de $(x - 0.5)$ para possibilitar o uso do teste estatístico.

No entanto o alto coeficiente de variação observados nos experimentos chegando a 489%, comprometem a obtenção segura de qualquer conclusão (tabelas 32 a 46), quanto a eficiência de controle, das pragas citadas.

Para a avaliação de danos na lagarta da maçã causados por *Heliothis virescens*, também não é informado o inseticida utilizado. O grau de dano nos botões florais no tratamento não GM e com inseticida, pode ser interpretado como sendo devido ao uso de produtos com baixa eficiência, ou devido a resistência adquirida, tornando impossível uma comparação quanto a proteção quando comparada com o algodão GM.

Aparecimento de resistência das pragas

A empresa informa que a redução no uso de inseticidas na cultura do algodão no Brasil não foi muito significativa com a liberação comercial de Bollgard II®, principalmente devido a problemas com pulgão (*Aphis gossypii* Glover), bicudo (*Anthonomus grandis* Boheman) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) que necessitam serem controladas com pulverizações de inseticidas nas nossas condições.

Vários trabalhos abordam a resistência de insetos às proteínas Cry, citadas (Tabashnik *et al.*, 2003) como também a necessidade do manejo integrado para minimizar este fator. Tal é a probabilidade do aparecimento de resistência que a solicitante conhecedora deste fato já prevê um manejo para a cultura, inclusive com áreas de refúgio, e com o plantio de espécies diferentes da cultura do algodão, como gramíneas (sorgo, milho, trigo, arroz). Levando em conta também a capacidade de dispersão das espécies de insetos, chegando a 1500 m no caso de espécies com alta mobilidade como *Alabama argillacea*, *Spodoptera frugiperda* e *Heliothis virescens*.

Reforçando a forte possibilidade de aparecimento de resistência, existe um **programa educacional** para os agricultores que “baseia-se no real entendimento por parte dos agricultores sobre os benefícios sociais, econômicos e ambientais de determinada tecnologia (Kennedy e Whalon, 1994).

,cientes da importância do MRI, da facilidade de implementação das áreas de refúgio e da viabilidade econômica das plantas cultivadas nestas áreas.”

Devido ao uso de outras culturas transgênicas como o milho e a soja, que expressam as proteínas de Bt, a pressão de seleção de resistência tende a ser maior, levando ao **aparecimento de praga que antes eram ocasionais, a serem pragas de grande importância, para o algodão como é o caso de *Spodoptera frugiperda*** .

São previstas medidas de mitigação; dentre elas o monitoramento da praga alvo de maneira contínua. Se pertinente, haverá a suspensão da comercialização da tecnologia em áreas onde forem identificados casos de resistência, em alta frequência gênica; **(não está explícita a indenização dos agricultores por perdas advindas desta tecnologia, o que deveria ocorrer pois o risco de resistência já é previsto)** o algodão MON 15985 poderá ser novamente ser cultivado nestas áreas tão logo a frequência de indivíduos resistentes retorne aos níveis aceitáveis, com o estabelecimento da suscetibilidade da praga alvo às proteínas Cry1Ac e Cry2Ab2 expressas na planta.

O controle de *A. argillacea*, *H. virescens* e *P. gossypiella* é previsto com as proteínas Cry1Ac e Cry2Ab. No entanto, o controle de *S. frugiperda* tem possibilidade de ocorrer somente com Cry2Ab. Portanto, o benefício da incorporação de duas proteínas não é observado para *S. frugiperda* (apenas uma proteína ativa para essa praga)

O evento MON 15985 não é de “alta dose”, pelo menos para *S. frugiperda*, baseado nos estudos reportados (Adamczyk *et al.* 2001, Stewart *et al.* 2001, Chitkowski *et al.* 2003, Sivasupramaniam *et al.* 2008), o que aumenta o risco para evolução da resistência com áreas

de refúgio de tamanho reduzido. Apesar de *S. frugiperda* não ter sido considerado como praga-alvo de controle com algodão Bollgard II®, há relatos de baixa atividade tóxica de Cry1Ac contra essa espécie (Luttrell et al. 1999, Sivasupramaniam et al. 2008) e a resposta à pressão de seleção para maior tolerância à Cry1Ac (Adamczyk & Summerford 2001).

O milho geneticamente modificado que expressa a proteína Cry1Ab foi recentemente aprovado no Brasil. Uma das pragas-alvo do milho é também *S. frugiperda*, portanto existe uma grande possibilidade de resistência cruzada entre Cry1Ac e Cry1Ab, pois atuam nos mesmos receptores da membrana do intestino médio das lagartas (Ferré & van Rie 2002).

Adicionalmente, a similaridade genética entre populações de *S. frugiperda* provenientes das culturas de algodão e milho foi recentemente comprovada no Brasil (Martinelli et al. 2006)

Devido a produção de milho em áreas extensas, *S. frugiperda* tem surgido como, uma praga importante também em algodão. Com a liberação de milho Bt , a possibilidade de resistência a curto prazo fica muito aumentada (FITT, et all, 2006).

Como os resultados apresentados da eficácia do algodão MON 15985 no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) foram baseadas apenas em infestações artificiais, que não correspondem aos insetos do campo que poderiam já apresentar um certo grau de resistência, existe a necessidade de um melhor entendimento da eficácia do seu controle em condições de infestação natural, bem como as implicações das práticas de manejo atuais no controle de outras pragas chave para avaliar os benefícios do algodão MON 15985.

1Existe ainda a possibilidade de resistência cruzada entre Cry1Ac e Cry1Ab, uma vez que atuam nos mesmos receptores da membrana do intestino médio das lagartas (Ferré & van Rie 2002). Esta preocupação é reforçada pela comprovação da recente da similaridade genética entre populações de *S. frugiperda* provenientes das culturas de algodão e milho no Brasil (Martinelli et al. 2006).

2A expressão da toxina Cry pelo algodão Bt, embora se apresente como uma excelente ferramenta para o manejo de lagartas, apresenta o risco potencial de favorecer as populações do pulgão do algodoeiro tornando essa praga ainda mais importante devido a desocupação do nicho das lagartas ou devido a efeitos pleiotrópicos (inesperados) causados pela transgenia.

Efeito sobre organismos não alvos

No documento da própria empresa é relatado , “ O potencial de proteínas Cry1 e Cry2 causar efeitos em lepidópteros não-alvo é bem conhecido, incluindo as lagartas de borboletas Monarca, assim como lepidópteros ameaçados ou em extinção.

Em seguida são apresentados na tabela 68, um resumo dos estudos com a proteína Cry2Ab2 em organismos não alvo, demonstrando o baixo risco sobre estes organismos.

Todos os trabalhos sem exceção são relatórios técnicos e não trabalhos científicos publicados em revistas indexadas, sujeitos a críticas da comunidade científica. E tomando como base os trabalhos apresentados para verificar a eficácia do controle das pragas com C.V de até 490% que levam a questionamentos quanto aos dados apresentados.

Na Tabela 69 da solicitação é apresentado um Resumo dos estudos de efeitos ecológicos da proteína Cry1Ac sobre organismos não-alvo indicadores. Todos os trabalhos citados ou são relatórios técnicos ou não estão referenciados. Fato que compromete, se não invalida totalmente os dados apresentados.

A empresa informa que os estudos foram realizados utilizando a proteína Cry1Ac produzida em *E. coli* (**equivalente à proteína produzida pela planta**) para confirmar essa especificidade no controle de insetos alvos. Sabe-se que os testes para avaliação da eficiência do controle das pragas alvos, de segurança alimentar e os estudos de impacto à fauna não-alvo devem ser realizados com a proteína Cry truncada, sintetizada pela própria planta e não com uma proteína Cry produzida por *E. coli*, pois sabe-se que a expressão do gene pode ser diferente, como tem sido demonstrado em vários casos.

Contrastando com as informações apresentadas, existem trabalhos já publicados que demonstram que inimigos naturais podem ser afetados diretamente quando se alimentam de insetos contaminados pela toxina. O potencial de mobilidade das toxinas do Bt ocasiona problemas sérios no controle biológico natural nos agroecossistemas. Afídeos são capazes de seqüestrar a toxina e transferir para coccinélidos predadores, afetando a reprodução e longevidade (BIRCH, 1997) Trabalhos semelhantes na Suíça demonstraram a alta mortalidade de Chrysopídeos e um prolongamento na sua fase de larva quando alimentada com presas alimentadas com folhas de plantas GM (HILBECK et al. 1998).).

Estudos envolvendo “ diamondback moth “ e sua vespa parasita (*Cotesia plutellae*) quando a larva foi forçada a se desenvolver em lagarta do lepidóptero tratados com Bt, inevitavelmente morria junto. (Schuler et al. 1999)

Estudos desenvolvidos por seis anos em campos de grande escala no estado do Arizona, mostraram uma redução de 19% em cinco das 22 taxas de inimigos naturais artrópodes em comparação com algodão não transgênico para Bt..(Naranjo, 2005) apud OECD,2007.

No Brasil onde o controle biológico natural desempenha um importante papel na manutenção das pragas em níveis abaixo do limiar econômico de dano, este impacto é muito grande, comprometendo a sua propalada vantagem no controle de pragas, necessitando portanto de trabalhos mais amplos e conclusivos antes da liberação comercial do algodão Bollgard II , devido ao alto risco de afetar os ONAs.

AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DA PROTEÍNA E RISCO AO MEIO AMBIENTE

Os dados apresentados no documento de adequação para avaliar a taxa de degradação da proteína extremamente baixos resultantes de publicações de Dubelman et al (2001) que são relatórios técnicos da empresa registrante, não condizem com dados apresentados em publicações discutidas na literatura publicada em revistas indexadas e submetidas à avaliação da comunidade científica. Os dados apresentados pela empresa são os seguintes:

As estimativas de DT50 para degradação da proteína Cry2Ab2 aplicada ao solo na forma de uma solução da proteína purificada foram menores ou iguais do que um dia: 0,4 dias para o solo do Mississippi, 0,9 para o solo do Arizona e 1 para o solo do Alabama (**Tabela 4**). As estimativas correspondentes de DT90 para a proteína Cry2Ab2 aplicada ao solo na forma de uma solução da proteína purificada foram menores ou iguais do que um dia: 0,4 dias para o solo do Mississippi, 0,9 para o solo do Arizona e 1 para o solo do Alabama (**Tabela 4**). As estimativas correspondentes de DT90 para a proteína Cry2Ab2 foram 1,9, 2,4 e 5,3 dias respectivamente para os três tipos de solo. A estimativa de DT50 para degradação para a proteína Cry2Ab2 aplicada ao solo na forma de tecido liofilizado do evento de algodão 15985X foram de 1,1 dias para o solo do Mississippi, 2,9 dias para o solo do Arizona e 67 dias para o solo do Alabama (**Tabela 5**). Os tempos de dissipação DL50 para os solos de todas as localidades são comparáveis às estimativas obtidas previamente por Dubelman et al. (2001) (DT50= 2,3 dias) para as proteínas presentes no algodão MON 15985.

Frente aos dados apresentados “ sugerem que qualquer proteína Cry2Ab2 que poderia atingir o solo na forma de proteína pura (exudato de raiz ou que não que não esteja combinada com tecido) seria degradada em menos de seis dias, com base nestas informações informam ainda que: “Estes resultados suportam a conclusão de que a proteína Cry2Ab2 derivada do algodão resistente a insetos, seja sozinha (15985X) ou combinada com Cry1Ac (MON 15985) degrada rapidamente no solo. Além disso, os valores curtos de DT50 e DT90 obtidos com os solos em avaliações de campo concluem que “ , não houve persistência ou acumulação das proteínas Cry1Ac ou Cry2Ab2 em solos cultivados com o algodão MON 15985.”

No entanto trabalhos de Baumgarte e Tebbe (2005) avaliando a persistência da proteína Cry1Ab imunorreativa após cultivo de milho MON 810 encontraram resíduos até sete meses após a colheita. Foram encontrados no período avaliado resíduo nos restos culturais de folhas de até 21ng por grama e em raízes até 183ng por grama, correspondendo a 12% das raízes intactas, o que sugere uma proteção no tecido vegetal. Foi constatada também a presença da proteína em exudato de raízes das plantas GM. Os autores relatam ainda que quando adicionada ao solo a eficácia de recuperação da proteína foi de 37%, isto talvez explique a não detecção, e que a porção aderida ao solo ainda mantém a sua ação inseticida.

Os valores de 0,21 ng Cry1Ab detectados no solo permitem inferir que uma pequena porção da toxina inseticida ou produtos de sua degradação permaneçam até a próxima safra. Fato também constatado por Saxena e Sotzky (2001) que observam que a proteína permanecia no solo por 180 dias, atribuindo isto ao fato de estarem envoltas com partículas do solo, conferindo desta forma uma proteção para a biodegradação. Na comparação entre 10 híbridos de milho GM e não GM, os autores citados verificaram que a taxa de lignina foi de 33 a 97 % maior em milho Bt em relação aos seus isogênicos.

Frente aos resultados obtidos e a possibilidade de plantios subsequentes com plantas GM, acumulando os resíduos (notadamente no plantio direto) os autores ressaltam a importância de se avaliar os efeitos da pós colheita sobre os organismos não alvos. Fato não discutido ou observado na presente solicitação de liberação comercial.

Outro fato importante não avaliado é a ocorrência e persistência da proteína em ambientes aquáticos.

Trabalho de Douville et al (2007) avaliou a ocorrência e persistência do *Bacillus thuringiensis* e do gene cry1Ab em ambientes aquáticos, afirmam que é necessário o desenvolvimento de estratégias de monitoramento para caracterizar a exposição ambiental e avaliar os efeitos de produtos como o do gene cry1Ab de plantas transgênicas, por apresentarem potencial atividade biológica no meio ambiente estendendo estes efeitos para organismos não alvos com consequentes efeitos adversos.

A contínua introdução de genes exógenos em vários compartimentos da biosfera pode influenciar a biodiversidade em escala global fato este que merece especial atenção. Dados de seu trabalho indicam que DNA do milho Bt foi persistente em meio aquático, **sendo detectado até 82 km rio abaixo em locais que drenavam as propriedades com plantios de milho GM.**

Resultados da pesquisa de Rosi-Marshall et al indicam que produtos transgênicos com Bt, podem causar efeito negativos na biota de rios em áreas agrícolas.

Fundamentados nestas informações os autores sugerem que devam ser incluídas avaliações sobre os potenciais efeitos em organismos não alvos dos OGMs nos organismos aquáticos, como os insetos. Afirma ainda que os bioprodutos de Bt podem representar um stressor adicional a sistemas eutrofizados e degradados, com implicações em sua recuperação.

No que diz respeito o milho Bt, que está liberado a mais tempo o que possibilita mais informações, existe indicações de um efeito anti-bacteriano das toxinas liberadas no solo (Escher *et al.*, 2000; Zalunin *et al.*, 2003 citado em Lang, 2005). Parece que a rizosfera é o lugar o mais afetado, com relação as comunidades bacterianas, da respiração do solo (Mulder *et al.*, Portanto tais alterações podem resultar em mudanças negativas da formação de composto e do desenvolvimento do solo, especialmente após alguns anos de cultivo com milho Bt.

Os estudos de Castaldini *et al.* (2005) e Turini *et al.* (2004 e 2008) mostraram uma diminuição da taxa de colonização das raízes de alguns milho Bt por micorrizas

Em um trabalho de revisão bibliográfica sobre riscos á saúde por alimentos derivados de OGMs, Domingo (2000), relata a surpresa em não ter achado nenhuma referência bibliográfica em periódicos internacionais de renome sobre a segurança dos alimentos transgênicos pelas companhias de biotecnologia, embora em seus relatos técnicos isto seja rotina. Qual a dificuldade em submeter ao julgamento da comunidade científica estes relatórios, uma vez que poderiam dar mais solidez as suas afirmações?

Relatório da produção e colheita de algodão no estado da Geórgia USA, www.uzacotton.com elaborado por MILLS et al, demonstra um aumento na área total plantada em 2001, (figura1) depois um retorno aos patamares anteriores, aponta também um aumento da área plantada com algodão **GM** a partir de 1995, mas sem um aumento na produtividade quando se compara a Fig.1 e Fig.2 ,

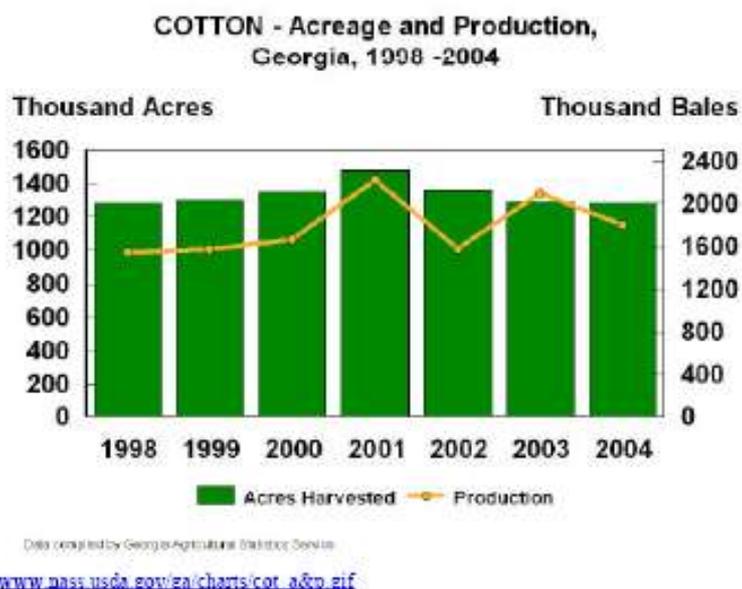


FIGURA 1 Área plantada de algodão e produção de algodão de 1998 a 2004.

Percentage of Georgia Cotton Crop Planted to Transgenic Varieties

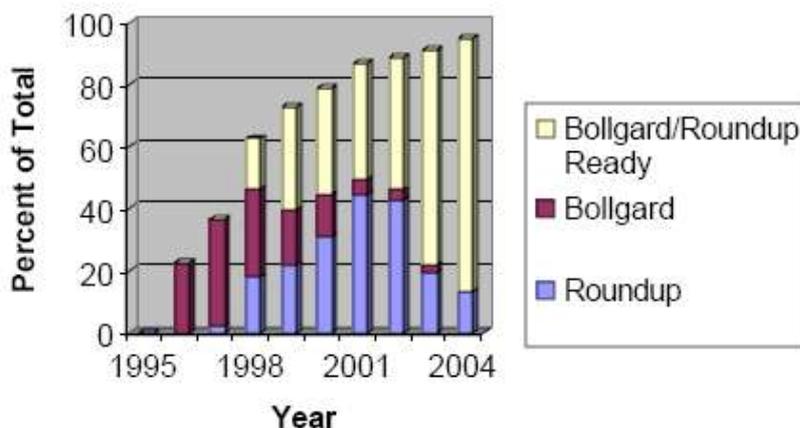


FIGURA 2 Porcentagem de algodão GM plantado no estado da Georgia de 1995 a 2004.

O documento relata também a ocorrência de uma mudança drástica nas variedades de algodão nos últimos 10 anos, de variedades locais para variedades GM, resistentes a herbicidas (glifosato) e a insetos (Bt) .

As cinco variedades mais plantadas em 2004 estão listadas na **Fig.3**. Onde as variedades GM representam 95% do total.

The top five cotton varieties planted in Georgia in 2004 are listed in the table below.

The Top 5 Varieties Planted (%) in Georgia in 2004, by Technology			
Bollgard/Roundup Ready	Roundup Ready	Conventional	Other
DP 555 BG/RR (55.7)	DP 5690 RR (5.0)		
DP 458 BG/RR (4.3)			
DP 444 BG/RR (4.2)			
DP 449 BG/RR (3.9)			
Percent of total plantings by technology:			
80.9	13.7	4.0	1.1
USDA Agriculture Marketing Service Survey, September 2004.			

Transgenic cotton planted in Georgia accounts for 95 percent of the total cotton grown.

FIGURA 3 Variedades mais plantadas no estado da Georgia em 2004.

Paralelamente um dos problemas fitossanitários apontado no documento que vêm aumentando são as doenças fúngicas causadas por *Rhizoctonia solani*, *Pythium spp* e *Fusarium spp*, Figura 4.

The most common cause of seedling disease found in Georgia is the fungus *Rhizoctonia solani*. The fungi *Pythium spp.* and *Fusarium spp.* can also cause damage to seedling plants.



Rhizoctonia solani



Fusarium spp.

FIGURA 4. Doenças fúngicas mais comuns nas lavouras da Georgia.

Entre os fatores que levam a ocorrência destas doenças, segundo o relatório, estão às más condições das sementes, justamente em um estado que tem 95% de seu material GM, que deveria ter um controle fitossanitário muito eficiente. Relatos na Índia também fazem esta correlação entre uso de algodão com resistência ao glifosato e Bt e a incidência de *Rhizoctonia*.

Outro relato também preocupante, constando no mesmo relatório é o da ocorrência de alta incidência de nematóides, nas variedades plantadas.

Dados de um relatório de um projeto sobre Impactos Ecológicos de OGM do governo da Austrália (CSIRO, 2004), apontava em uma de suas conclusões que : " existe uma significativa diferença observada na composição da biota do solo associada com os resíduos da cultura em algodão GM Bt e não Bt. E completa que os resultados indicavam a necessidade de pesquisas a longo prazo sobre os impactos ambientais da proteína Bt no ecossistema do solo.

Documento do governo americana (USDA) que relata os resultados de um projeto sobre a vulnerabilidade genética do algodão nos EUA, expõem a grande deficiência de coleção de diversidade de germoplasma de *Gossypium barbadense* e *G. mustelinum* da America do Sul . Destaca que *G. mustelinum* uma espécie " relíquia ", semelhante ao ancestral tetrapóide, que se encontra em um espaço restrito no Nordeste do Brasil, que pode ser considerado como em extinção. Afirma a necessidade de trabalhos cooperativos com o Brasil para determinar a extensão desta distribuição, a sua vulnerabilidade e como conservar esta diversidade genética ex situ.

Faz uma advertência de que a adoção de cultivares transgênicos, inadvertidamente ocupam a maior parte do território americano nos estados produtores de algodão resultando em baixa diversidade, levando a um potencial risco devido a vulnerabilidade genética.

Como consequência da adoção desta tecnologia, cerca de 70% e 92%, da área plantada no Texas e Novo México respectivamente são ocupadas por um só material genético.

Referencias

Bernstein, I.L., Bernstein, J.A., Miller, M., Tierzieva, S., Bernstein, D.I., Lummus, Z., Selgrade, M.K., Doerfler, D.L. and Seligy, V.L. . Immune responses in farm workers after exposure to *Bacillus thuringiensis* pesticides .*Environmental Health Perspectives* 107, 575-5821999

BARROSO, P. A. V.; FREIRE, E. C.; AMARAL, J. A. B. do; SILVA, M. T. 2005. Zonas de exclusão de algodoeiros transgênicos para preservação de espécies de *Gossypium* nativas ou naturalizadas. Campina Grande: Embrapa Algodão, 7 p. (Comunicado Técnico, 242).

Barroso, P.A.V. 2006. 2006. Mapeamento da distribuição Geográfica das Espécies de *Gossypium* que ocorrem no Brasil, com vistas à conservações dos Parentes Silvestres do Algodoeiro (*Cossypium hirsutum* L.). In: Coradin, L., Nodari & Kageyama, Parentes Silvestres das Espécies de Plantas Cultivadas. MMA. Brasília. DF.

BAUMGART, S. and TEBBE, C. C. Field studies on environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON 810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere . *Molecular Ecology* (2005) **14** , 2539-2551.

CSIRO, Australian Government Program investigating the Ecological Impacts of Genetically Modified Organisms, 2004.

DOMINGO, J. L. *Science* 9 June 2000:Vol. 288. no. 5472, pp. 1748 – 1749.

DOUVILLE, F. Gagne', C. Blaise, C. Andre'. Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and transgenic Bt corn cry1Ab gene from an aquatic environment *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66 (2007) 195–20

FERRÉ, J. & van Rie, J. 2002. Biochemistry and Genetics of Insect Resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*, 47: 501-543.

FITT, G.P.; Omoto, C.; Maia, A.H.; Waquil, J.M.; Caprio, M.; Okech, M.A.; Ia, E.; Huan, N.H.; Andow, D.A. 2006. Resistance risks of Bt cotton and their management in Brazil. IN: Hilbeck, A. Andow, D.A & Fontes, E.M.G. (Eds.). *Environmental risk assessment of genetically modified organisms: Methodologies for assessing Bt cotton in Brazil*. Cambridge: CABI Publishing, p. 300-345.

GONZALEZ, A. J.; ROYO, O.M.; POISSON, A.F., SIMORELLA, M.A.; MARTINEZ, E. Control de las contaminaciones con el transgén Bt en las primeras multiplicaciones comerciales de los cultivares de algodón convencional INTA. In VI Congresso Brasileiro de Algodão. Disponível em :

<http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/cba6/trabalhos/Biotecnologia/Trabalho%20B04.pdf>. Acessado em 05/02/2009.

HAGERTY, A.M., Kilpatrick, A. L., Turnipseed, S. G., Sullivan, M. J. & W. C. Bridges. 2005. Predaceous Arthropods and Lepidopteran Pests on Conventional, Bollgard, and Bollgard II Cotton Under Untreated and Disrupted Conditions. *Environ. Entomol.* 34(1): 105-114

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. CONSENSUS DOCUMENT ON SAFETY INFORMATION ON TRANSGENIC PLANTS EXPRESSING BACILLUS THURINGIENSIS - DERIVED INSECT CONTROL PROTEINS. ENV/JM/MONO(2007)14

MARTINELLI, S.; Montrazi, R.B.; Zucchi, M.I.; Silva-Filho, M.C. 2006. Molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. *Journal of Economic Entomology*, v. 99, p. 519-526.

ONU-COMMITTEE ON ECONOMIC, SOCIAL AND CULTURAL RIGHTS
Fortieth session 28 April - 16 May 2008. CONSIDERATION OF REPORTS SUBMITTED BY STATES PARTIES UNDER ARTICLES 16 AND 17 OF THE COVENANT 15 p

PUSZTAI, A and S. Bardocz: GMO in animal nutrition: potential benefits and risks. In: "Biology of Nutrition in Growing Animals" (ed. Mosenthin, R. Zentek, J. and Zebrowska, T.) 2006 Elsevier Limited, pp. 513-540, 2006

"Registros de Contaminação Transgênica 2007" (www.gmcontaminationregister.org)

ROSI-MARSHAL, E.J.; TANK, J.L.; ROYER, T.V.; EVANS-WHITE, M.; CHAMBERS, C.; GRIFTHS, N.A.; J. AND STEPHEN, M.L.; POKELSEK, J. Toxins in transgenic crop by products may affect headwater stream ecosystems. *PNAS*, v. 104, n.41, p.16204-16208, 2007.

SAXENA, D. and STOTZKY, G. Bt toxin uptake from soil by plants. *Nature biotechnology* v.19 -199 march 2001 <http://biotech.nature.com>

SAXENA, D. and STOTZKY, G. Bt corn has a higher lignin content than Non-Bt Corn. *American Journal of Botany* 88(9):1704-1706. 2001

USDA. Cotton germplasm status report and crop vulnerability status (1997-2005) Disponível em: http://www.ars-grin.gov/npgs/cgc_reports/cottonstatus2005final.pdf. acessado em 05/03/2009

Parecer final:

A pesquisa e liberação de OGMs deve levar em conta , assim como qualquer outra tecnologia, não um caráter determinista baseado na pseudo neutralidade de decisões. Pois a tomada de decisão entre várias alternativas possíveis desencadeia efeitos irreversíveis que após a liberação fogem de nosso controle. A não consideração de vários aspectos da avaliação dos OGMs como tem sido ressaltado em várias ocasiões é extremamente preocupante e não condiz com a visão sistêmica como deve ser tratado este tema.

E é justamente quando uma única trajetória prevalece sobre outras que aumentam os riscos de redução das oportunidades produtivas, redução da biodiversidade incremento de problemas sociais e, da mesma forma oportunidades de pesquisa.

Embora a denominação desta comissão “Comissão Técnica Nacional de Biossegurança”, tenha sido considerada em seu sentido extremamente restrito,as nossas avaliações devem se pautar por princípios epistemológicos que considerem simultaneamente saberes técnicos, científicos, econômicos, sociais, legais, e éticos, procurando desta forma avaliar em seu todo os possíveis impactos advindos da aplicação de uma nova tecnologia.

Uma vez que em várias ocasiões foi reforçado por um discurso determinista de que “ já esta em uso em outro pais e nada aconteceu”, deveríamos prestar atenção também para literatura mais recente que aponta para riscos ambientais e de saúde, com o relatório elaborado no estado da Georgia USA, onde a redução das variedades plantadas tem sido preocupante e o aumento da incidência de doenças fúngicas e a ocorrência de nematóides foi detectado outras

informações muito relevantes que apontam para outros aspectos, como o informe recente da ONU : Onde a Índia que possui a maior área plantada de algodão do mundo, e onde o algodão transgênico foi liberado, inclusive o MON 15985 desde 2006 , é citada em um documento das Nações Unidas do **Economic and Social Council** de maio de 2008, aponta a seguinte declaração sobre a questão do algodão transgênico na Índia.

“ O Comitê está particularmente preocupado com a extrema pobreza entre os pequenos proprietários, causado pela falta de terras, acesso ao crédito e adequadas infraestruturas rurais, e que tem se exacerbado pela introdução de Sementes Geneticamente Modificadas pelas corporações multinacionais”.

Portanto avaliando a solicitação e considerando os fatos expostos, observamos que os dados para a liberação comercial não são suficientes para comprovar a sua biossegurança, ou seja apontam para um biorrisco, pois comprometem o meio ambiente como um todo, e não garantem uma produção mais sustentável. Os dados de eficiência no controle das pragas apresentados são inconsistentes, e não seriam aceitos para publicação em nenhuma revista científica com um mínimo de critério. Os impactos sobre o meio ambiente não são suficientemente conhecidos, e as recentes descobertas sobre os impactos negativos da proteína Cry sobre artrópodes que atuam no controle biológico natural e sobre a biota do solo, bem como a sua permanência no solo indicam a necessidade de mais estudos em condições brasileiras para avaliar as possíveis vantagens de uma liberação comercial, frente aos impactos ambientais sociais e econômicos.

Frente ao exposto, o parecer é pela não liberação comercial do algodão Bollgard II

Data: Campinas, 08 de dezembro de 2008.

**José Maria Gusman Ferraz
Membro da CTNBio**

Assessora Técnica: Vânia Gomes da Silva