



Guia para a Avaliação do Risco Ambiental de Organismos Geneticamente Modificados

1ª Edição, São Paulo - ILSI Brasil 2012



ILSI

International Life
Sciences Institute
Brasil

**Guia para a
Avaliação do
Risco Ambiental
de Organismos
Geneticamente
Modificados**

ILSI BRASIL
INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE DO BRASIL

Rua Hungria, 664 - conj.113

01455-904 - São Paulo - SP - Brasil

Tel./Fax: 55 (11) 3035 5585 e-mail: ilsibr@ilsil.org.br

© 2012 ILSI Brasil International Life Sciences Institute do Brasil

ISBN 978-85-86126-43-7



ILSI

International Life
Sciences Institute
Brasil

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Guia para a Avaliação do Risco Ambiental de Organismos Geneticamente Modificados / [editores] Paulo Paes de Andrade, Wayne Parrott. -- 1. ed. -- São Paulo : International Life Sciences Institute do Brasil, 2012.

Vários autores.
Bibliografia

1. Agricultura 2. Biotecnologia 3. Engenharia genética 4. Organismos geneticamente modificados 5. Risco - Avaliação 6. Riscos ambientais
I. Andrade, Paulo Paes de. II. Parrott, Wayne.

12-11693

CDD-660.65

Índices para catálogo sistemático:

1. Avaliação de risco ambiental : Transgênicos : Engenharia genética : Biotecnologia 660.65

As afirmações e opiniões expressas nesta publicação são de responsabilidade dos autores, não refletindo, necessariamente, as do ILSI Brasil. Além disso, a eventual menção de determinadas sociedades comerciais, marcas ou nomes comerciais de produtos não implica endosso pelo ILSI Brasil.

APOIO:



Guia para a Avaliação do Risco Ambiental de Organismos Geneticamente Modificados

Editores

Paulo Paes de Andrade

Professor do Departamento de Genética da
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.
andrade@ufpe.br

Wayne Parrott

Professor do Departamento de Ciências de Cultivos
e Solos, Universidade da Geórgia, Estados Unidos.
wparrott@uga.edu

María Mercedes Roca

Professora Associada de Biotecnologia,
Departamento de Meio Ambiente e
Desenvolvimento, Universidade Zamorano,
Honduras

Autores

Ederson Akio Kido

Professor do Departamento de Genética da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

Elizabeth Hodson de Jaramillo

Professora Emérita da Faculdade de Ciências, Pontifícia Universidade Javeriana, Colômbia

Fernando Carlos Zelaschi

Responsável pela Área de Biossegurança da Diretoria de Biotecnologia e pela Unidade de Avaliação de Biossegurança, Ministério da Agricultura, Pecuária e Pesca, Argentina

Francisco José Lima Aragão

Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasil

Gutemberg Delfino de Sousa

Professor Titular da Faculdade Anhanguera de Brasília, Brasil; Assessor da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, Brasil

Isabel Saad Villegas

Pesquisadora da Universidade Nacional Autônoma do México, México

Jose Luis Solleiro Rebolledo

Pesquisador em Política e Gestão da Inovação do Centro de Ciências Aplicadas e Desenvolvimento Tecnológico da Universidade Nacional Autônoma do México, México

Josias Corrêa de Faria

Pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Brasil

Marcia Almeida de Melo

Professora do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

María Mercedes Roca

Professora Associada de Biotecnologia, Departamento de Meio Ambiente e Desenvolvimento, Universidade Zamorano, Honduras

Moisés Burachik

Diretor de Assuntos Regulatórios do Instituto de Agrobiotecnologia Rosário (INDEAR), Argentina

Paulo Paes de Andrade

Professor do Departamento de Genética da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

Sol Ortiz García

Diretora de Informação e Fomento à Pesquisa, Secretaria Executiva da Comissão Intersecretarial de Biossegurança de Organismos Geneticamente Modificados (CIBIOGEM), México

Wayne Parrott

Professor do Departamento de Ciências de Cultivos e Solos, Universidade da Geórgia, Estados Unidos

Tradução e revisão técnica da versão em português

Marcia Almeida de Melo e Paulo Paes de Andrade

Título original em espanhol: Guía de Evaluación de Riesgo Ambiental de Organismos Genéticamente Modificados

Agradecimentos

Agradecemos a Daniel Bayce, Câmara Uruguaia de Sementes; a Karla Tay, Especialista de Assuntos Agrícolas do Departamento de Agricultura Americano (USDA), na Guatemala; a Drew L. Kershen, Professor de Direito, Escola de Direito, Universidade de Oklahoma, EUA; e à equipe de avaliação de risco da Diretoria de Biotecnologia do Ministério de Agricultura, Pecuária e Pesca da Argentina, pelos comentários e sugestões sobre o conteúdo e a organização deste guia.

Índice

Prefácio	10
Introdução	12
SEÇÃO 1 - Guia para avaliação e análise de risco	19
Capítulo 1 – Avaliação de risco ambiental	21
1.1 Formulação do problema na avaliação de risco ambiental (passos 1 e 2) ..	22
1.2 Segundo passo: formulação do problema (lista de perigos)	29
1.3 Terceiro passo: caracterização do risco	31
1.4 Quarto passo: estimativa do risco	35
1.5 Quinto passo: tomada de decisão	36
Capítulo 2 – Análise de risco para a biossegurança ambiental	37
Capítulo 3 – Gestão e comunicação de riscos	41
Capítulo 4 - Cenário regulatório	47
SEÇÃO 2 - Estudo de casos	51
Introdução	53
Capítulo 5 – Avaliação da segurança ambiental de Organismos Geneticamente Modificados	55
5.1 Algodão MON531 resistente a insetos	56
5.2 Milho GA21 tolerante ao herbicida glifosato	68
5.3 Feijão Embrapa 5.1 (EMB-PV051-1) resistente ao vírus do mosaico dourado	78
5.4 Soja GTS 40-3-2 tolerante ao herbicida glifosato	91
5.5 Milho MON89034-3 x MON 00603-6 (NK603) resistente a insetos e tolerante ao herbicida glifosato	101
5.6 Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> cepa Y1979 produtora de óleo combustível (farneseno)	123
Capítulo 6 - Referências	133
Anexo I - Importância do marco regulatório	139

Lista de quadros

Definição de Evento	13
Análise de risco e avaliação de risco no contexto deste guia	15
O Perigo no contexto da avaliação de risco	16
Conceito de Risco	17
A biodiversidade e as metas de proteção	23
Mecanismo de propagação	24
Organismos não alvo	25
Conceito de familiaridade segundo o Conselho Nacional de Pesquisa da Academia de Ciências dos EUA	26
Conceito de fluxo de genes	27
Transportabilidade de dados e avaliações de risco: O conceito de familiaridade segundo o Protocolo de Cartagena	28
Categorias frequentes de perigos	29
Carência de dados e a necessidade de ensaios confinados	32
Protocolo de Cartagena e considerações socioeconômicas	39
A avaliação de risco e o monitoramento	42
Coexistência	42
Considerações para o monitoramento pós-liberação comercial	43
Comunicação e rotulagem	44
Variedades crioulas	75

Prefácio

Os produtos da engenharia genética são conhecidos como transgênicos ou como Organismos Geneticamente Modificados (OGM). O Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança, derivado da Convenção de Biodiversidade, também os define como “Organismos Vivos Modificados” (OVM), ou seja, organismos geneticamente modificados com capacidade de reprodução. Um OGM é qualquer organismo vivo, inclusive plantas cultivadas, que possua uma combinação nova de material genético, obtida através das técnicas da biotecnologia moderna. Uma vez que a maioria dos cultivos foi modificada geneticamente de uma forma ou outra ao longo da história, a melhor designação deveria ser “transgênico” sempre que a modificação incluir a transferência de genes entre diferentes taxa. Entretanto, o termo “OGM” está amplamente aceito como termo oficial e será, portanto, empregado neste guia.

O uso de OGM, ou cultivos geneticamente modificados (GM), na agricultura e em outros setores da produção continua aumentando globalmente, devido às vantagens que traz ao setor produtivo e ao consumidor. Por outro lado, o desenvolvimento e o uso desta tecnologia exigem o compromisso de não trazer novos riscos ao ambiente onde serão introduzidos. No caso de cultivos, o ambiente é o agroecossistema onde se esperam cultivar os OGM, além dos ecossistemas vizinhos.

Da mesma forma como se observa em outras áreas que requerem a avaliação de riscos, a biossegurança na biotecnologia apresenta aspectos interdisciplinares fundamentais característicos da análise de risco. Por sua vez, a análise de risco como disciplina científica compreende a avaliação de risco, assim como a gestão de risco e, por fim, a percepção e a comunicação de risco.

A avaliação de risco ambiental de OGM avançou consideravelmente durante a primeira década do século XXI, mas até hoje não havia sido publicado um texto resumido, claro, conciso e prático sobre esta nova disciplina. Este guia representa um esforço coletivo em nível latino-americano para ordenar de forma simples e eficiente a avaliação de risco que os países devem realizar, sem comprometer o meio ambiente nem prejudicar seu desenvolvimento econômico.

A tomada de decisões correta deve ser fundamentada em uma avaliação de risco robusta, que faça as perguntas corretas. O guia consta de duas seções: a Seção 1 está centrada exclusivamente na avaliação de risco, que deve ser realizada sobre bases científicas; contudo, para fins didáticos será também discutida a análise de risco como disciplina, com o intuito de fornecer ao leitor o contexto dentro do qual se encaixa a avaliação de risco. A Seção 2 inclui exemplos que seguem as instruções do guia passo a passo, enfatizando a segurança ambiental dos cultivos geneticamente modificados que já se encontram em comercialização em muitos países.

É importante enfatizar que as recomendações contidas neste guia estão em completa sintonia com as recomendações para avaliação de risco delineadas no Artigo 15 e seu Anexo III, do Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança. Por fim, embora este guia enfoque principalmente os cultivos geneticamente modificados, cumpre ressaltar que a metodologia e os princípios aqui delineados são igualmente aplicáveis a qualquer OGM.

Introdução

Historicamente, as atividades humanas sempre tiveram um considerável impacto sobre o meio ambiente. Entre as atividades destaca-se a agricultura que, na sua missão de assegurar a alimentação da população, também contribuiu para o desmatamento, para a extinção de espécies, para a erosão dos solos e para a contaminação das águas e de outros recursos naturais. O século passado terminou trazendo uma nova percepção sobre a importância dos recursos naturais e sobre a necessidade de conservá-los; atualmente é preciso também considerar que é imprescindível o uso sustentável dos recursos naturais para que a humanidade conte com os meios necessários para sobreviver, mesmo quando a população ultrapasse os nove bilhões de habitantes. Por todas estas razões, novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas que buscam corrigir os efeitos nocivos da agricultura do passado sem gerar novos danos, procurando assim reduzir os impactos ocasionados pelas práticas agrícolas convencionais.

A modificação genética convencional dos cultivos teve um papel muito importante através dos séculos, aumentando a produtividade agrícola e melhorando a qualidade dos alimentos. O próprio Charles Darwin, em sua “Origem das Espécies”, registrou que os cultivos mantidos há mais tempo em nossas hortas foram tão modificados que é hoje quase impossível reconhecer os antepassados silvestres que lhes deram origem. De início a modificação se deu pela seleção dos fenótipos mais desejados e o cruzamento entre eles. No século passado, adicionou-se a este processo seletivo a metodologia científica derivada do conhecimento das Leis de Mendel, o que levou ao estabelecimento de uma nova disciplina, conhecida como melhoramento vegetal. A ela se incorporou ao fim do século passado a engenharia genética, que emprega a transferência ou a modificação de genes (ou sequências de DNA) entre organismos mediante o uso de técnicas de DNA recombinante (rDNA) para incorporar novas características às plantas, o que teria sido impossível ou muito difícil de obter através de técnicas convencionais. Há inúmeros paralelos entre a produção de uma nova variedade e a produção de um evento geneticamente modificado (GM), como mostrado na Figura 1.



Figura 1: Comparação entre o processo de melhoramento convencional e a produção de um evento GM elite. O evento elite, por sua vez, será incorporado num programa de melhoramento convencional para a transferência da construção genética a muitas variedades. Em ambos os casos, começa-se com um grande número de plantas, que vai sendo progressivamente reduzido segundo critérios seletivos de comportamento agrônômico. Em cada etapa restam os indivíduos com as características desejadas e se descartam todos aqueles que não passam nos critérios de qualidade. Devido a este estrito processo de seleção, é pouco provável que um OGM problemático chegue a ser comercializado. A figura para o melhoramento convencional é uma modificação de <http://www.generationcp.org/plantbreeding/index.php?id=052>.

Definição de Evento

A palavra “evento” é muitas vezes empregada para falar de um OGM. Um evento é simplesmente um OGM derivado de uma única célula transgênica, ou seja, de uma única transformação. Outros OGM podem ser criados independentemente no mesmo processo de transformação e terão o mesmo transgene, mas em outras posições no genoma e, portanto, são “eventos” diferentes. Como a integração de um transgene no genoma ocorre ao acaso em cada célula, não há dois OGM derivados independentemente que tenham o transgene na mesma posição do genoma. Por isso, cada OGM derivado independentemente é denominado um evento. É comum criar centenas ou mesmo milhares de eventos, dos quais somente um é selecionado para fins comerciais.

O conceito de biossegurança

No fim do século passado iniciou-se a adoção, desde então sempre crescente, dos OGM, primeiro na produção em contenção de fármacos (p.ex., insulina humana) e pouco depois na agricultura e em outras atividades produtivas. A perspectiva que se tinha na década de 1980, quando a tecnologia foi lançada, era a de que a humanidade teria a possibilidade de gerar novos organismos que de outra forma jamais existiriam na Natureza, o que originou preocupações quanto à possível transferência das modificações genéticas às espécies sexualmente compatíveis e quanto ao possível impacto destes organismos na fauna e na flora. No âmbito agropecuário, esta preocupação se estende também à coexistência entre as variedades geneticamente modificadas e as convencionais e com a biota em geral. As considerações que circundam o tema da aplicação desta tecnologia na agricultura podem ser agrupadas em várias categorias que incluem, de forma ampla, preocupações com a inocuidade ou aptidão alimentar, segurança ambiental, implicações éticas, culturais e de impacto socioeconômico.

O conceito de biossegurança, que surgiu ao fim do século passado, é a resposta a estas preocupações. A biossegurança é um conjunto de políticas, normas e procedimentos adotados e constitui a aplicação de princípios científicos que dirige a forma rigorosa de avaliar os possíveis novos perigos derivados da adoção da biotecnologia; se existirem, define métodos eficazes para a prevenção e mitigação de potenciais impactos negativos que poderiam derivar desta tecnologia. O objetivo fundamental de um sistema de biossegurança é prevenir, manejar, mitigar, minimizar ou eliminar os perigos à saúde humana e animal e proteger o meio ambiente de danos devidos a agentes biológicos utilizados em pesquisa e no comércio. No caso deste guia, os agentes biológicos são os OGM, embora haja outros enfoques de biossegurança mais amplos que incluem outras aplicações. A biossegurança em seu contexto mais geral inclui componentes legais, científicos, técnicos, administrativos e institucionais.

Desde o início, os OGM foram submetidos a rigorosas avaliações de risco relacionadas ao uso como alimento ou a sua liberação no ambiente, previamente à sua comercialização. Com pequenas diferenças nas quantidades e classes de alimentos consumidos em cada região do globo, a aptidão ou inocuidade alimentar per se é de caráter universal. Esta universalidade não é a

priori aplicável à inocuidade ambiental e por isto esta deve ser avaliada para os ecossistemas representativos dos locais onde se espera semear o cultivo.

O primeiro capítulo descreve como se deve levar a cabo uma avaliação de risco como parte integrante da análise de risco; nos capítulos seguintes se encontram os outros componentes da análise de risco, além de outras informações pertinentes à avaliação de risco ambiental.

Análise de risco e avaliação de risco no contexto deste guia

A **análise de risco** é o uso sistemático da informação disponível para guiar a tomada de decisões, com base nos riscos e benefícios avaliados, da adoção de uma tecnologia em particular. Esta análise considera principalmente os aspectos de biossegurança, os quais são determinados por uma avaliação de risco. A análise de risco consta de três partes:

- **Avaliação de risco** é o processo científico de estimar níveis de risco, incluindo estimativas sobre possíveis consequências. Depois de identificar metas de proteção, consiste no uso sistemático da informação disponível para identificar possíveis perigos e sua probabilidade de ocorrência, para em seguida inferir com certeza aceitável sobre a inocuidade da nova tecnologia num determinado ambiente e sobre a saúde humana e animal. A inocuidade se refere à carência ou a um nível baixo de riscos associados ao produto. A avaliação de risco, sendo científica, ela própria não considera os aspectos sociais e econômicos consequentes à adoção da tecnologia; alguns países incluem esta preocupação na análise de risco.
 - **Manejo/ gestão de risco** é o processo de definir ou propor estratégias para prevenir, mitigar ou controlar os riscos em níveis aceitáveis. Estabelece restrições e medidas de controle que devem ser adotadas.
 - **Comunicação de risco** é o intercâmbio interativo de informação entre os diferentes atores sobre os possíveis perigos e seu manejo, assim como dos benefícios, para que se tomem decisões informadas. Envolve um diálogo aberto entre os reguladores, os tomadores de decisão e o público. Como requisito mínimo, os argumentos favoráveis aos OGM devem ser baseados em dados e argumentos científicos seguros.
-

A avaliação de risco considera exclusivamente os perigos (ou seja, associados a possíveis impactos negativos) que são biologicamente factíveis e que se prestam a uma avaliação científica usando métodos empíricos. Baseia-se no delineamento de perguntas sobre riscos cientificamente fundamentados

e não em possibilidades especulativas que respondem primariamente a uma curiosidade ou inquietação pessoal, para poder ao final estimar o nível de risco que cada perigo apresenta.

O Perigo no contexto da avaliação de risco

Há diferenças na severidade de um perigo, mas o português e o espanhol não têm as palavras para nomeá-las. Em inglês, a análise de risco usa a palavra “hazard”, o que não tem equivalente em português ou espanhol, razão pela qual se costuma traduzir como *perigo* ou *ameaça*. Mas o *perigo* é mais comumente traduzido para o inglês como “danger”, sendo “danger” o mais alto grau de perigo. *Ameaça* costuma ser traduzida como “threat”. Perigo é usado aqui por conveniência, não porque capte o significado exato de «hazard.» Na verdade, a palavra «hazard» deveria ser traduzida como «possíveis impactos negativos» ou como «possível ameaça», termos menos fortes, mas que melhor traduzem o sentido correto.

Esta inferência do nível de risco é feita com base na probabilidade de ocorrência de perigo identificado e a gravidade dos danos que pode causar. A relação entre as duas variáveis é que permite estimar um risco e, caso ele não seja aceitável, permite também desenvolver recomendações para o controle, mitigação e, de forma geral, seu manejo.

A análise de risco inclui a avaliação de risco, além de outros fatores que podem ser pertinentes. Um dos mais úteis é a avaliação do risco / benefício, que é feita comparando os possíveis efeitos positivos e negativos, com base no que se conhece das práticas convencionais ou atuais. Se for necessário gerir riscos a posteriori, as medidas propostas para a gestão devem ser claramente proporcionais ao potencial de dano e probabilidade de ocorrência; para tal se deve proceder a uma análise consistente, sólida, séria e argumentada, tanto dos efeitos da liberação do OGM quanto os da sua não adoção. Na verdade, o Protocolo de Cartagena inclui a possibilidade de incorporar considerações socioeconômicas para complementar a tomada de decisões na análise de risco. Este tem sido o procedimento adotado por alguns países, como a Argentina, que inclui na análise a possibilidade de que as exportações possam ser adversamente afetadas pela aprovação e plantio do OGM.

Conceito de Risco

- A diferença entre um perigo e um risco é um conceito fundamental na avaliação de risco. Uma definição muito geral de risco é a probabilidade de que um dano ocorra e suas possíveis consequências.
- O conceito de risco tem um significado diferente segundo as características sociais, culturais e econômicas de quem o percebe. Também tem significados diferentes para a mesma pessoa em diferentes momentos e depende da situação particular em relação a uma determinada inquietação. *Por isso é importante focar a avaliação de riscos objetivamente nos fatores que possam ser cientificamente medidos.*
- Perigo (“hazard”) é efetivamente uma ameaça hipotética. Dano é o impacto real caso o perigo se materialize e risco é uma estimativa da probabilidade de ocorrência do perigo e da magnitude do dano esperado:

Risco = probabilidade de ocorrência do dano x consequências

- Nenhuma atividade humana, por mais simples que seja, apresenta risco nulo: inclusive, a falta da atividade pode implicar em maior risco.
-

SEÇÃO 1
Guia para avaliação
e análise de risco

Capítulo 1

Avaliação de risco ambiental

É conveniente apresentar as etapas da avaliação de risco em um esquema para destacá-las das demais ações inerentes à análise de risco, que serão apresentadas no próximo capítulo. A ideia geral é identificar perigos novos, ou seja, aqueles devidos à modificação genética e ainda não existentes na agricultura convencional, para, em seguida, avaliar a possibilidade de que esses perigos se materializem e causem danos. A Figura 2 resume os passos da avaliação de risco. Os primeiros dois passos compõem a formulação do problema; no passo 3 são identificados a probabilidade de ocorrência e o dano potencial associado a cada novo perigo listado no passo 2. A avaliação destes serve como base para o descarte dos perigos que não são novos ou são improváveis, ou ainda que não se prestam a uma avaliação, reduzindo assim a lista de riscos significativos que devem ser avaliados. O risco de cada perigo restante é estimado com base num algoritmo qualitativo tabular amplamente utilizado na avaliação do risco (Passo 4), que inclui a dimensão do dano potencial estimado. Havendo risco, na etapa 5 determina-se se ele é aceitável ou se pode ser manejado para reduzir, evitar, mitigar ou minimizar seus efeitos. Em todos os exemplos apresentados neste manual, ícones serão apresentados ao início de cada item, indicando em que passo da avaliação o leitor se encontra.



Figura 2: Relação entre os passos da avaliação de riscos, indicados no texto.

1.1 Formulação do problema na avaliação de risco ambiental (passos 1 e 2)

A comparação dos riscos apresentados pelos cultivos GM deve ter como ponto de referência o comportamento das variedades tradicionais conhecidas, em situações semelhantes de cultivo. Como mostra a Figura 2, a formulação do problema compreende dois passos: a *definição do contexto* e o estabelecimento de uma lista de perigos, conhecido também como *definição do problema*.

Primeiro passo: o contexto



O contexto é o primeiro elemento da formulação do problema e inclui o ambiente receptor e as atividades humanas relacionadas ao uso do OGM. Também inclui considerações sobre a construção genética do OGM e suas características biológicas. É importante considerar o comportamento previsto do OGM em seu entorno, assim como suas formas de reprodução e propagação (a biologia do organismo homólogo convencional e seus usos).

O contexto também inclui as metas de proteção definidas pelos marcos legais do país. Como as metas de proteção dependem do marco legal, da biologia do organismo e do ambiente receptor, não é possível formular uma lista de metas específicas aplicáveis a todos os casos, mas é possível identi-

car temas gerais dentro dos quais se enquadram as perguntas específicas para cada caso. Por isso, foram incluídos diversos estudos de caso na Seção 2 deste guia, para demonstrar os princípios de avaliação aplicados em diferentes situações. A formulação do problema, se executada corretamente, garante a qualidade da avaliação de risco ambiental para a tomada de decisão (Wolt et al., 2010). Finalmente, é preciso manter claro em mente que não é o impacto universal de um OGM que está sendo avaliado, mas apenas os efeitos que diferem daqueles ocasionados por organismos semelhantes, mas não GM, em uma determinada região.

A formulação do problema compreende cinco elementos principais:

a A identificação de metas ou objetivos de proteção relevantes à avaliação, as quais deveriam idealmente estar descritas no marco legal ou regulatório, assim como em outros documentos pertinentes às políticas públicas de proteção ambiental do país. Estas metas, comumente, incluem objetivos muito gerais, como a proteção da biodiversidade, da saúde humana e animal e dos agroecossistemas. Esta complexidade precisa ser reduzida através da seleção de elementos chave representativos dentro do conjunto das metas de proteção.

Embora não seja possível uma lista definitiva de metas de proteção, seguramente alguns elementos são frequentemente encontrados nas avaliações de risco, tais como proteção a espécies ameaçadas ou icônicas, preservação ou melhoria da qualidade da água e dos solos, proteção a espécies benéficas para a agricultura e proteção dos recursos genéticos do país (p.ex., variedades locais ou espécies crioulas). Estas metas são efetivamente uma primeira etapa na redução operacional da complexidade do ambiente receptor.

A biodiversidade e as metas de proteção

Há várias generalidades nas metas de proteção, ou seja, naqueles elementos do ambiente que se deseja proteger, no caso específico, dos efeitos possíveis ou comportamentos indesejados de um OGM. Estas metas muitas vezes se encaixam dentro da categoria da biodiversidade. Contudo, a biodiversidade é um conceito muito amplo e complexo. Assim, para poder avaliar riscos é imprescindível, primeiramente, identificar os aspectos da biodiversidade que podem ser ameaçados pelo uso do OGM e que sejam também mensuráveis. Estas metas de proteção mais específicas são denominadas pontos finais de avaliação (*assessment endpoints*)

Os pontos finais de avaliação podem ser definidos como “uma expressão explícita e precisa do valor ambiental que se quer proteger” e devem ser mensuráveis. Do ponto de vista operativo, os pontos finais de avaliação são definidos como uma entidade ambiental que pode ser susceptível de dano, associada a algum atributo que proporciona a evidência do dano. Por exemplo, as abelhas são uma entidade ambiental valorizada e sua abundância nos agroecossistemas é um atributo importante. Assim, a abundância das abelhas em um determinado agroecossistema pode constituir um ponto final de avaliação para uma meta de proteção mais geral, como a biodiversidade.

b **Conhecimento da biologia do organismo homólogo convencional e seus usos**, com ênfase na descrição das características do homólogo convencional (não GM), que ajudam a prever o comportamento do OGM. Normalmente há publicações que descrevem adequadamente a biologia do organismo parental (homólogo convencional não GM) e seu uso. O propósito é o de identificar características biológicas que pudessem causar um efeito adverso. Por exemplo, se um cultivo não GM cruza facilmente com um parente silvestre, a versão GM também o fará, razão pela qual ter-se-á que avaliar as consequências do fluxo de genes. Em outro exemplo, se um cultivo tem sementes que sobrevivem muitos anos no solo, um ensaio confinado com a versão GM do cultivo precisa incluir precauções para que as sementes não caiam no solo ou monitorar plantas voluntárias nas safras seguintes.

Mecanismo de propagação

O mecanismo de propagação ou reprodução de um OGM pode influir em seus possíveis efeitos, já que este é um aspecto que influencia os níveis de exposição ao OGM. As principais variáveis que se devem considerar para um cultivo GM em relação ao mecanismo de propagação e reprodução são:

a Se o cultivo é anual ou perene, neste último caso permanecendo no campo por muito tempo.

b Alguns cultivos são autógamos, cujo pólen é pouco móvel. Os outros são alógamos e tem o pólen mobilizado pelo vento, por insetos, ou por outras vias, o que aumenta a distância de dispersão do pólen. É fundamental conhecer a biologia do pólen (viabilidade, mobilidade, entre outros). Outro mecanismo de dispersão importante é através de sementes.

C Há espécies que se propagam de forma vegetativa em seu cultivo, mas que têm a capacidade de produzir pólen ou sementes. Para estes cultivos existem condições (horas de luz e faixas de temperatura) que fomentam o cruzamento sexual.

d Finalmente, há cultivos que se propagam exclusivamente de forma vegetativa, como a banana, pois são estéreis em todas as condições. Neste caso, não há oportunidade para fluxo de pólen, mas pode acontecer a persistência no solo de tecidos com capacidade reprodutiva.

C A caracterização do ambiente receptor do OGM em avaliação. Inclui-se aqui a identificação de organismos chave que poderiam sofrer danos devido à presença do OGM. Entre estes estão os organismos sexualmente compatíveis com o OGM. Quando o produto do transgene é uma toxina (p.ex., o Bt), também se deve assegurar que a proteína produzida não provoque danos aos organismos não alvo que pudessem ser eventualmente susceptíveis a esta toxina. Estes organismos devem ser representativos de todos os possíveis organismos não alvo em um dado agroecossistema.

Organismos não alvo

Há um equívoco comum em relação à palavra toxina, já que frequentemente se supõe que uma toxina é automaticamente tóxica para todo e qualquer organismo. Não é assim: primeiramente, é preciso lembrar que muitas toxinas só são tóxicas para certas espécies. Por exemplo, a teobromina, encontrada no chocolate, é inócua para seres humanos, mas umas poucas barras de chocolate têm suficiente teobromina para matar um gato ou um cachorro. Portanto, a seleção de organismos cuja susceptibilidade eventualmente será testada depende do modo e escala de toxicidade apresentada pelos OGM. Por exemplo, um determinado cultivo Bt produz toxinas que afetam exclusivamente certos lepidópteros ou certos coleópteros. Uma lectina, por outro lado, pode ser tóxica a uma gama mais ampla de artrópodes e até a vertebrados.

Cabe destacar que mesmo que um organismo seja susceptível a uma toxina produzida por um OGM, não existe um risco se o organismo não estiver exposto à toxina. Por exemplo, uma lagarta pode estar frequentemente exposta à toxina num cultivo Bt, mas não um inseto aquático. Finalmente, a toxicidade depende, naturalmente, da dose.

d A construção genética, com ênfase na expressão dos transgenes e nas alterações fenotípicas esperadas consequentes à transformação genética. Embora seja frequente fornecer e analisar toda a informação sobre o vetor (a construção genética), nem toda a informação fornecida é necessária à avaliação de risco.

De fato, há alguns detalhes da construção que são informativos para a avaliação. Por exemplo, o nível de risco pode ser distinto se o transgene é expresso continuamente ou em determinados momentos, ou se é expresso em todos os tecidos da planta ou apenas em algum tecido. Da mesma forma, o organismo do qual se originou o gene usado na transformação genética também pode ser importante, já que alguns organismos podem ter características indesejáveis e é fundamental saber se o gene transferido não é justamente o responsável por algumas destas características.

Outros detalhes, como o mapa e os elementos que compõem o vetor e o mapa de restrição, não contribuem de nenhuma forma para a avaliação de risco. Esta informação é fornecida com o propósito de permitir o desenho de protocolos para detecção do evento, que não é parte da avaliação de risco. O método de transformação também é irrelevante, uma vez que a metodologia nada informa sobre a inocuidade ambiental. Até o momento não foi identificado qualquer risco específico associado a uma dada metodologia de geração de OGM.

Conceito de familiaridade segundo o Conselho Nacional de Pesquisa da Academia de Ciências dos EUA

Desde os primórdios da agricultura, praticamente todos os cultivos foram geneticamente modificados, empregando métodos convencionais via seleção e cruzamento. É importante ter em mente que qualquer que seja o possível impacto ambiental a ser avaliado, ele será relacionado à característica conferida pela modificação e não ao método (convencional ou por meio da engenharia genética) que foi empregado para produzir a modificação genética. Por isso, é adequado e útil tomar como base para comparações o organismo modificado por fitomelhoramento convencional para fazer previsões sobre o comportamento de um OGM sob determinadas situações de cultivo, segundo o conceito de familiaridade (NAS, 1989). Este conceito es-

tabelece que “os cultivos modificados pela engenharia genética não devem apresentar riscos distintos daqueles apresentados pelos cultivos modificados através do fitomelhoramento convencional para características similares e quando cultivados em condições similares”.

Este conceito também se aplica a modificações ocasionadas por fatores de transcrição ou pelo silenciamento de genes, que por sua vez podem regular a expressão de muitos outros genes. O melhoramento convencional frequentemente lança mão de características devidas a mutações em genes reguladores, que normalmente se expressam em determinados momentos e condições (Parrott et al., 2010). Nunca foram detectados indícios de que a alteração de genes reguladores obtida por engenharia genética possa apresentar riscos diferentes daqueles apresentados pela mesma alteração obtida pelo melhoramento convencional.

Conceito de fluxo de genes

Tanto os cultivos convencionais como os OGM podem fazer cruzamentos com outras variedades do mesmo cultivo ou ainda com espécies sexualmente compatíveis. A este evento se denomina fluxo de genes, às vezes incorretamente referido como ‘contaminação’. Após o cruzamento, o novo gene pode vir a estabelecer-se e fixar-se depois de várias gerações em outras variedades ou espécies sexualmente compatíveis (introgressão).

A ocorrência de um simples cruzamento não significa fixação do gene numa outra população. Para que se produza fluxo de genes, e subsequente introgressão, os seguintes eventos devem ocorrer:

1. Cruzamento com espécies sexualmente compatíveis ou outras variedades da mesma espécie: para que isso ocorra, ambas devem estar próximas e apresentar fenologias similares para que no momento da polinização exista receptividade; além disso, a progênie deve ser viável.
2. Em geral, para que o gene permaneça na população, ele deve conferir uma vantagem seletiva à progênie (p. ex., resistência a insetos praga).
3. O gene deve estar presente em gerações sucessivas (introgressão).

A presença de fluxo de gene, e mesmo a eventual persistência do gene na nova população, não significa automaticamente que haja algum risco. É indispensável avaliar os possíveis efeitos que a presença do gene possa ter na espécie na qual se introduziu através do cruzamento, assim como sua interação com outros organismos do seu entorno. Estes conceitos estão discutidos em maior detalhe na **Figura 3**.

Um caso concreto que bem ilustra tanto o conceito de familiaridade como o de fluxo de genes é representado pelo teocinte, que cresce há milênios ao lado do milho, assim como pelas raças de milho que cresceram lado a lado por muitos séculos; embora esteja bem documentado que o milho e o teocinte cruzam entre si, da mesma forma que as várias variedades de milho crioulo, e ainda que haja evidências de que este cruzamento resulta em fluxo de genes, nem por isto houve dano ao teocinte ou às várias variedades de milho crioulo.

e O histórico de uso

de um evento ou de eventos semelhantes em outros países ou no mesmo país. Embora seja certo que não existam dois ambientes idênticos, há certamente condições ambientais que são comparáveis, o que permite fazer inferências sobre os resultados esperados da liberação de um OGM.

Transportabilidade de dados e avaliações de risco: o conceito de familiaridade segundo o Protocolo de Cartagena

O Artigo 13 do Protocolo de Cartagena reconhece implicitamente e aprova o **conceito de familiaridade**. Na concepção do Protocolo, o conceito se refere à familiaridade com certos eventos de OGM que já foram submetidos a uma avaliação de risco em outros países. Em virtude do Artigo 13, as Partes poderão adotar procedimentos simplificados para a autorização de importação de OGM. Segundo o Artigo 13, item 1(b), as Partes podem, inclusive, eximir certos OGM do procedimento conhecido como Acordo Prévio Informado.

Em outras palavras, as Partes podem recorrer à avaliação de riscos e à análise de risco já realizada em outros países. Se a autoridade responsável pela avaliação de risco de um país Parte do Protocolo tratou de riscos ambientais similares, outra Parte pode aceitar e confiar na avaliação de risco da primeira Parte. Além disso, as Partes podem utilizar a avaliação de riscos de outro país para esclarecimentos e redução do elenco de perigos identificados a fim de evitar a duplicação de esforços na etapa de avaliação de riscos.

Um entendimento frequente é de que, pela adoção de procedimentos simplificados em atendimento ao Artigo 13 do Protocolo, as Partes também cumprem com as obrigações previstas no Acordo sobre Medidas Sanitárias e Fitossanitárias (Acordo SPS) da Organização Mundial do Comércio. Em virtude do Artigo 4 do Acordo (denominado "Equivalência"), as Partes se

comprometem ao reconhecimento mútuo de normas equivalentes. Quando as Partes usam o que estabelece o Art. 13 do Protocolo, reconhecendo uma avaliação de risco conduzida em outro país Parte, elas também cumprem com suas obrigações internacionais, tanto previstas no Protocolo de Cartagena como no Acordo SPS.

Como forma suplementar de aquisição de informação para subsidiar a avaliação de risco de OGM, as Partes podem também recorrer à informação disponibilizada pelo Centro de Intercâmbio de Informações em Biossegurança, mais conhecido como Biosafety Clearing House (BCH), criado pelo Artigo 20 do Protocolo e onde estão disponíveis dados sobre as avaliações de risco feitas por outros países parte do Protocolo e sobre os OGM aprovados para liberação comercial.

1.2 Segundo passo: definição do problema (lista de perigos)



Uma vez estabelecido o contexto, o passo seguinte é a **definição do problema**, ou seja, uma lista ou inventário de todos os perigos que poderiam acontecer se o OGM fosse liberado no ambiente receptor. Neste passo o avaliador não deve ainda se debruçar sobre a avaliação dos riscos associados a cada perigo, nem formular hipóteses que possam explicá-los, mas tão somente listar perigos, por mais improváveis que pareçam, que possam ser atribuídos à introdução do OGM no ambiente receptor, levando em consideração o contexto detalhado no passo anterior. O resultado deve ser uma lista de perigos que representem diferentes enfoques à questão específica da introdução do OGM, baseada na experiência acumulada de avaliações de risco anteriores de OGM similares, ou baseada em informação científica proveniente de outras fontes, independentemente do seu conteúdo ou qualidade. Uma vez estabelecido o contexto (passo 1) e definida a lista de perigos (passo 2), a formulação do problema está encerrada.

Categorias frequentes de perigos

Ainda que as perguntas específicas sejam distintas para cada OGM, há categorias gerais de perigo que podem ser consideradas. Como exemplo, estão apresentadas abaixo as categorias de perigo associadas a um cultivo GM.

Perigos de caráter geral associados a um OGM

- Aumento do nível de adequação ou adaptação (“fitness”) do OGM a diferentes ambientes
 - Maior fecundidade
 - Comportamento invasivo (“invasiveness”)
 - Tendência a adquirir características de planta daninha (“weediness”)
- Impactos sobre espécies sexualmente compatíveis
- Fluxo de genes que altere adequação ou adaptação de espécies potencialmente receptoras

Perigos associados à produção de toxinas pelo OGM

- Impacto sobre organismos não alvo suscetíveis à toxina
 - Artrópodes, especialmente os benéficos à agricultura, associados com o OGM
 - Outros invertebrados, especialmente de solo
 - Vertebrados associados com o OGM
 - Microorganismos do solo
- Outros impactos
 - Acumulação de toxinas não inativadas no solo
 - Alteração da biodegradação dos restos culturais do OGM

Perigos associados a um OGM tolerante a herbicidas

- Incentivo a práticas agronômicas indesejáveis (p. ex., falta de rotação de culturas)
 - Uso de certos herbicidas ou mudanças na quantidade aplicada

Perigos à tecnologia GM (não ocasionam danos ao ambiente fora da área agrícola, mas podem requerer monitoramento)

- Para OGM produtores de toxinas
 - Seleção de pragas resistentes
- Para OGM tolerantes a herbicidas
 - Seleção de plantas daninhas resistentes

A evolução de resistência é uma situação frequente na agricultura e requer o uso de boas práticas agrícolas (com monitoramento) para retardar ao máximo seu aparecimento. Para maior informação sobre o conceito de monitoramento, ver Capítulo 3.

1.3 Terceiro passo: caracterização do risco



O passo seguinte da avaliação de risco é a caracterização do risco, ou seja, a determinação da probabilidade de que o perigo de fato apresente um risco capaz de causar danos novos. A análise deve considerar a exposição ao perigo e, em caso de haver exposição, sua intensidade, quantidade ou duração, e os possíveis danos associados.

Nem todos os perigos identificados na etapa anterior serão relevantes para a avaliação de risco. Para alguns haverá um fundamento biológico e para outros não será possível estabelecer uma lógica causal que os relacione com o OGM. A escolha dos possíveis perigos cujos riscos serão avaliados deverá se basear num claro fundamento científico para cada perigo e na experiência prévia de outros países com o OGM em questão. Neste processo pode acontecer que o avaliador necessite de informações específicas que não haviam sido inicialmente fornecidas pelo desenvolvedor do OGM. Perguntas de caráter meramente especulativo ou que só satisfazem à curiosidade ou temor pessoal ou de algum grupo não são adequadas nem relevantes na avaliação de risco.

As consequências da exposição ao OGM são avaliadas através de medidas de parâmetros apropriados e dependem em grande parte da frequência e da duração da exposição. Por isso, neste passo, as duas ações (quantificação da exposição e, em havendo, determinação das consequências da exposição, ou seja, danos novos associados ao OGM, mas não à sua contrapartida não GM) devem ser levadas a cabo simultaneamente. De praxe, as informações publicadas em livros e revistas científicas de renome (que foram submetidas a uma revisão por *experts*), assim como as avaliações de risco e relatórios das agências reguladoras de OGM de outros países, são fontes imprescindíveis de dados.

É fundamental estabelecer quais são os parâmetros que serão avaliados (pontos finais de avaliação; *assessment endpoints*) dos objetivos de proteção, reconhecendo, igualmente, que a complexidade do contexto não permite que todas as variáveis sejam avaliadas. Por exemplo, o impacto ambiental negativo devido ao cultivo de uma planta resistente ao ataque de certos insetos pertencentes à ordem Lepidoptera, via a produção no OGM de uma proteína inseticida (p. ex., Bt), poderia ser avaliado através de muitos parâ-

metros (p. ex., o impacto multitrófico sobre insetos que parasitam o inseto alvo), além das variáveis de fato relevantes (p. ex., o impacto sobre um organismo não alvo susceptível), mas as informações adicionais geradas não seriam muito informativas. A escolha de uma ou mais espécies não alvo que representam adequadamente o risco pode parecer difícil, mas atualmente há uma ampla experiência nesta área específica da avaliação de risco. Por outro lado, dados relevantes podem ser obtidos de ensaios realizados em outros países, sempre e quando as condições dos ensaios forem compatíveis com as do país que quer adotar a tecnologia. Um passo a passo (rota ao dano) para estabelecer as etapas que determinam uma relação causal entre um perigo e seu dano associado está exemplificado na Figura 3 para um caso específico hipotético.

Carência de dados e a necessidade de ensaios confinados

Uma vez que os OGM apresentam um conjunto novo de genes, seu comportamento deve ser averiguado em condições de biossegurança. Por isso, é necessário observar o OGM em condições controladas de confinamento por um período adequado. Durante este período de observação, pode-se determinar se o OGM mostra algum comportamento não esperado. Além disso, os dados obtidos nas observações em confinamento servem para instruir a avaliação de risco. Estas liberações (conhecidas no Brasil como liberações planejadas) são sempre prévias à finalização da avaliação de riscos para fins de liberação comercial e sem elas pode haver falta de dados, sem os quais não seria possível efetivamente concluir a avaliação de risco.

Os ensaios confinados (liberações planejadas) são aprovados apenas depois do claro estabelecimento de medidas que assegurem que o OGM não poderá escapar do confinamento, medidas estas identificadas através de uma avaliação de risco prévia. No caso de cultivos GM as medidas podem incluir, por exemplo, distâncias mínimas de separação entre a área com OGM e os cultivos convencionais (não GM), ou a eliminação de estruturas reprodutivas (flores, rizomas, etc.). Podem incluir também o monitoramento das safras subsequentes para eliminação de sementes extraviadas que estejam germinando como plantas voluntárias. Quando as áreas são mecanizadas, ou bem se emprega maquinaria exclusiva para a área GM ou a maquinaria é totalmente limpa antes de ser empregada num campo não GM.

Os passos que devem ser seguidos para obter a liberação comercial de um OGM dependem da regulamentação de cada país. Em alguns países, se os ensaios confinados não indicarem problemas, pode-se avançar para a liberação comercial. Em outros, o OGM passa ainda por uma etapa semi-comercial prévia.

Devido ao fato do risco ser formalmente definido como uma função da exposição e de suas consequências, entendidas como os danos que podem ser causados à entidade que se quer proteger, torna-se imprescindível determinar o cenário que descreve a rota ao dano. Esta rota se refere à série de eventos que devem ocorrer de forma sucessiva para que o ponto final de avaliação seja afetado pela atividade, neste caso a liberação de um OGM no ambiente. Esses eventos podem ser criados por meio de hipóteses ou suposições de risco passíveis de serem investigadas. Estas suposições não são especulações, mas deduções plausíveis. O uso de hipóteses de risco que conduzem a avaliação de risco através de uma rota ao dano confere validade científica ao processo.

A abordagem através de eventos que, quando ocorrem, mantêm a cadeia que leva a um dano, facilita o processo de avaliação dos cenários imaginados, e permite eliminar muitas rotas ao dano que não são plausíveis. Isto é muito importante também na etapa de comunicação de risco, porque é possível explicar que durante o processo de avaliação foi considerado um possível perigo ou dano em particular, mas que ele foi descartado pela ausência de uma rota plausível para a sua ocorrência.

A Figura 3 apresenta um cenário hipotético de dano resultante do cultivo de uma planta transgênica, tendo como ponto final de avaliação uma população selvagem de uma planta de interesse, por exemplo, uma espécie em extinção que compartilha seu habitat com um parente selvagem do OGM que se planeja cultivar. O exemplo de rota ao dano foi desenhado a partir da seguinte hipótese geral de risco: *“A cultura GM, através de fluxo de pólen, vai conferir uma nova característica ao seu parente selvagem que será mais invasivo e deslocará a planta de interesse X de seu habitat”*, que representa o ponto final de avaliação da meta de proteção.

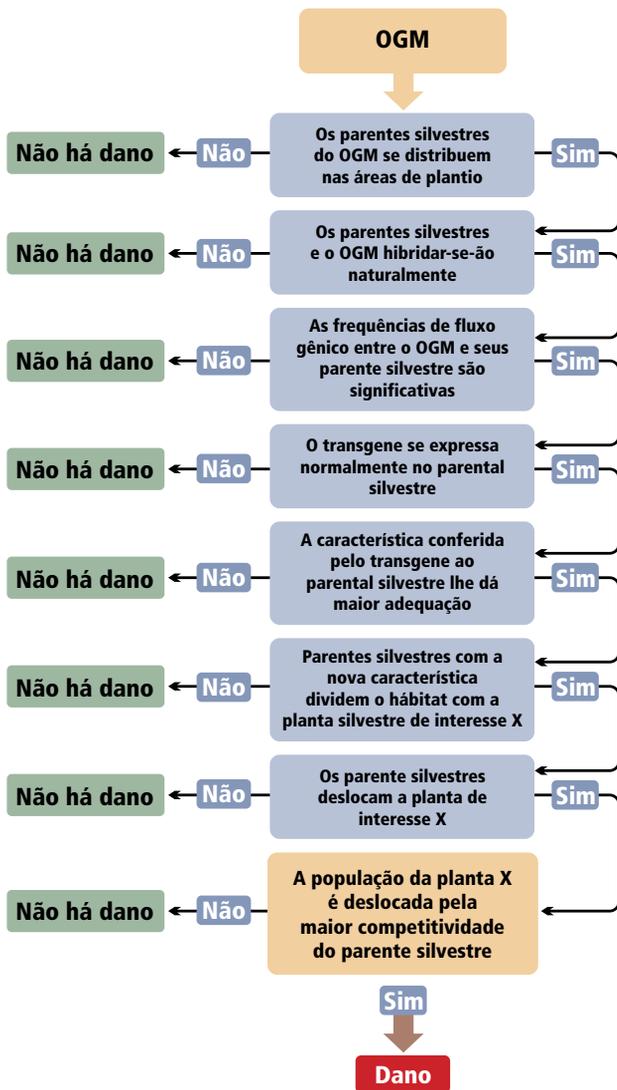


Figura 3. A rota ao dano devido ao fluxo de genes e à vantagem competitiva conferida pela modificação genética. Este diagrama mostra todos os eventos que devem ocorrer antes que o fluxo de genes possa causar danos, destacando os critérios que devem ser estabelecidos para avaliar o potencial impacto, neste caso, sobre uma população de interesse.

1.4 Quarto passo: Estimação do risco



A quarta etapa da avaliação de risco é a estimação do risco, feita com base na probabilidade de materialização de um perigo e, em havendo, nos danos/ consequências sobre os parâmetros avaliados associados à manifestação do perigo às metas de proteção. A estimativa é sempre relativa, isto é, sempre obtida por comparação com o modo como o organismo convencional afeta os mesmos parâmetros, avaliados nas mesmas condições.

A categorização do nível de risco é sempre um exercício difícil; sugere-se, portanto, o uso da tabela a seguir, criada para ajudar os avaliadores de riscos.

Os riscos avaliados para os OGM liberados comercialmente foram considerados insignificantes (ou desprezíveis), no sentido de não terem um impacto ambiental negativo diferente daqueles advindos das variedades não GM dos mesmos organismos. Portanto, como mostrado na Figura 4, ou as consequências foram avaliadas como marginais ou menores, ou a probabilidade de ocorrência de danos foi considerado baixa ou muito baixa.

		ESTIMAÇÃO DO RISCO			
PROBABILIDADE	MUITO ALTA	BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
	ALTA	BAIXO	BAIXO	MODERADO	ALTO
	BAIXA	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO	MODERADO
	MUITO BAIXA	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIÁRIA	GRANDE
		CONSEQUÊNCIAS			

Tabela 4: Algoritmo tabular para estimação qualitativa do risco da introdução de um OGM no meio ambiente. As estimativas de dano (devido à exposição) e de probabilidade (ou frequência / amplitude de exposição) devem ser feitas com base na informação obtida no passo de caracterização de risco (adaptado de Sousa e Andrade, 2012 e OGTR, 2009, disponível em [http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/raf-3/\\$FILE/raffinal4.pdf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/raf-3/$FILE/raffinal4.pdf)).

1.5 Quinto passo: tomada de decisão



Uma vez estimados os riscos potenciais associados com a liberação de um OGM no meio ambiente, o avaliador determina se a liberação apresenta um risco aceitável ou que possa ser mitigado e define ações a serem tomadas (ou condições) para o manuseio (gestão) do risco. O tipo de liberação desejada (confinada ou comercial) pode influenciar a decisão final. Como indicado anteriormente, o processo de avaliação de riscos de uma liberação comercial de OGM exige a aprovação de ensaios confinados (liberações planejadas) para obtenção dos dados necessários para a conclusão da avaliação.

O processo de decisão pode ser levado a cabo de diferentes maneiras, de acordo com a legislação de cada país. Em alguns casos, os avaliadores de risco decidem sobre a aceitabilidade dos riscos avaliados, definem medidas de gestão de risco e até mesmo tomam a decisão sobre a aprovação ou não de uma liberação comercial. Em outros países, a avaliação científica dos riscos determina uma recomendação para o órgão responsável pela gestão de risco e para aqueles que vão tomar a decisão final, que podem considerar outras questões, tais como aspectos socioeconômicos ou benefícios para embasar a decisão final. Quando isso ocorre, é muito importante que, na fase da comunicação de risco, o público seja informado de uma forma transparente sobre os elementos que pavimentaram a decisão.

Em suma, a avaliação de risco é o processo pelo qual se trata da biossegurança de um OGM com a meta de alcançar resultados confiáveis. Este processo, embora complexo e multifacetado, pode ser realizado através de um conjunto de metas e medidas de proteção que pode ser abordado de maneira prática e eficaz, garantindo uma proteção razoável do meio ambiente e mitigando, reduzindo ou evitando os riscos porventura identificados. Desta forma, evitam-se também atrasos desnecessários ao acesso do usuário aos avanços e desenvolvimentos tecnológicos.

Capítulo 2

Análise de risco para a biossegurança ambiental

Existem vários efeitos possíveis que um organismo modificado pode ter sobre o meio ambiente, independentemente do fato de ter sido modificado por métodos convencionais ou por rDNA. No caso dos OGM, o objetivo de uma análise de risco e, mais especificamente, da avaliação de risco (como parte da análise de risco), é determinar se o OGM pode apresentar riscos distintos daqueles apresentados pelo organismo convencional ou não transgênico (ou ainda pelo OGM já aprovado) atualmente em uso. Por isso, quaisquer que sejam os efeitos possíveis, sempre devem ser comparados o OGM e sua contrapartida não GM liberada no mesmo contexto.

Nesta premissa, a análise de risco é realizada em três fases interdependentes: avaliação, gestão e comunicação de riscos. A Figura 5 mostra a relação entre essas fases.

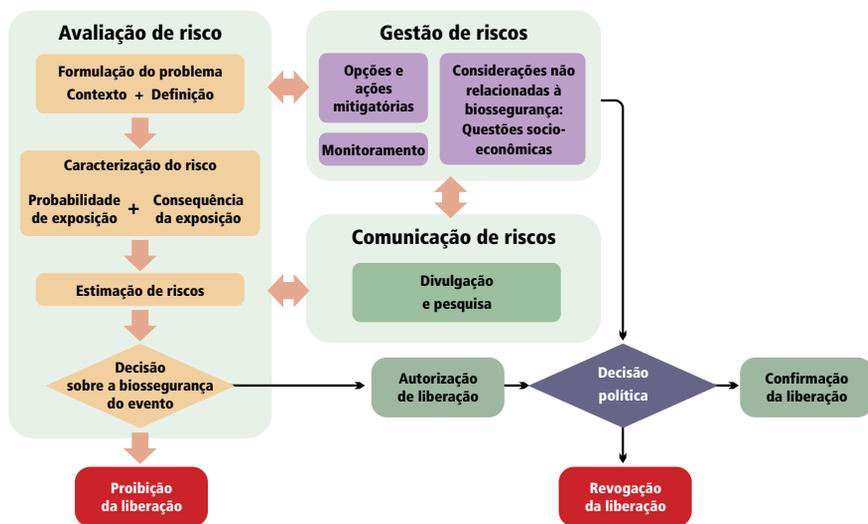


Figura 5: Fluxograma da análise de risco, incluindo a avaliação de risco, a gestão e a comunicação de risco (adaptado de Wolt et al., 2010). Nas liberações comerciais não deveria haver necessidade de adotar medidas de gestão; em alguns casos, entretanto, algumas medidas específicas podem ser justificáveis.

Uma vez concluída a avaliação de risco e identificados um ou mais riscos novos e significativos devidos à modificação genética obtida por rDNA, é necessário chegar a uma conclusão cientificamente fundamentada sobre a segurança do produto. Em geral, esta decisão não será contestada por outras instâncias decisórias governamentais, por ser o resultado de um processo científico.

A análise de risco requer, então, determinar se os riscos identificados são aceitáveis, ou se é possível estabelecer uma gestão e prover a mitigação dos riscos, reduzindo-os a um nível aceitável. Considerações adicionais que não fazem parte da avaliação de risco em si, mas da tomada de decisão, podem agora ser feitas e incluem considerações sobre as questões sociais e econômicas. A avaliação de tais questões é tarefa de especialistas em questões econômicas e sociais, e não dos avaliadores de risco. Durante essa etapa podem ser sopesados tanto os riscos quanto os benefícios ambientais. Por exemplo, no caso de cultivos geneticamente modificados, está bem documentado o benefício ambiental resultante da redução da utilização de inseticidas e da taxa de erosão do solo. Um milho GM também pode ter menos micotoxinas.

Quando necessárias, as medidas propostas para a gestão de risco serão sempre determinadas caso a caso. Em alguns casos, pode não ser necessário tomar medidas de gestão, em outros casos, medidas específicas podem ser justificáveis. A gestão de risco consiste de recomendações para o uso seguro do OGM e é a base para um possível monitoramento após o sua liberação comercial. A gestão dos riscos identificados, por sua vez, leva a uma comunicação de risco para a população que pode ser afetada pelo OGM, e também retroalimenta o gestor com informações sobre possíveis danos. Além disso, a avaliação de risco pode ser revista e ajustada se as publicações científicas ou os relatórios oficiais indicarem novos riscos ou danos reais ao meio ambiente.

Protocolo de Cartagena e considerações socioeconômicas

O artigo 26 do Protocolo de Cartagena dispõe que as Partes “podem levar em conta, de acordo com suas obrigações internacionais” considerações socioeconômicas na avaliação de risco dos OGM. Os reguladores e demais pessoas envolvidas na tomada de decisão devem notar que a linguagem do Artigo 26 expressamente usa a frase “podem levar em conta” - o que significa que cada Parte tem o direito discricionário de levar em conta, ou não, as considerações socioeconômicas. Portanto, o protocolo não obriga as Partes a levar em conta este tipo de considerações. As Partes estão em plena conformidade com o Protocolo quando, no exercício do seu poder discricionário, excluem considerações econômicas da análise de risco.

Além disso, as Partes devem agir “de acordo com suas obrigações internacionais”. Essa linguagem é uma referência às obrigações das Partes que são membros de tratados internacionais que regem o comércio mundial, especificamente o Acordo de Medidas Sanitárias e Fitossanitárias (Acordo SPS). Nos termos do Acordo SPS, as Partes concordam em utilizar princípios científicos e ciência baseada em evidências para tomar decisões em avaliação de risco.

Nos três últimos parágrafos do Preâmbulo do Protocolo, as Partes comprometem-se a “apoiarem-se mutuamente” no comércio e em acordos ambientais internacionais. As Partes atingirão efetivamente a conformidade com esse apoio mútuo através do exercício do seu poder discricionário (Artigo 26) para excluir considerações econômicas na análise de risco. Na verdade, levar em conta considerações desta natureza representa um grande potencial para criar conflitos entre o comércio internacional e o meio ambiente, uma vez que este tipo de considerações não está baseado em princípios científicos ou em ciência baseada em evidências.

Capítulo 3

Gestão e comunicação de riscos

A gestão de risco inclui parte de uma formulação preliminar de opções para reduzir os riscos ambientais novos que foram identificados na avaliação de risco e, caso aconteçam danos, a formulação de um plano para a rápida adoção de medidas eficazes de mitigação.

Como as medidas de redução de risco ou mitigação de danos envolvem custos, tanto econômicos como ambientais, os benefícios ambientais proporcionados pela utilização de um OGM devem ser avaliados e comparados com o potencial de dano, para assim determinar se a autorização de liberação comercial é adequada ou, por outro lado, se sua negação deve ser sugerida (Figura 5).

A avaliação de risco e o monitoramento

A aprovação de uma cultura GM para o mercado pode ser acompanhada de restrições ou condições. Algumas destas são impostas para mitigar ou gerir os riscos que foram identificados, enquanto outras se encaixam na categoria de monitoramento.

O objetivo do monitoramento não é garantir a segurança ambiental, mas proteger a eficácia da tecnologia, a pureza das sementes e a propriedade intelectual. Este monitoramento é algumas vezes chamado “stewardship”.

O monitoramento mais frequente é o uso e a inspeção de refúgios para cultivos GM resistentes a insetos. A finalidade do refúgio é impedir que os insetos tornem-se resistentes à proteína Bt, contribuindo para que elas não percam rapidamente a sua eficácia.

É muito importante notar que as medidas de gestão de risco são sempre específicas para o uso do cultivo e proporcionais ao risco identificado. Por exemplo, no Brasil, para garantir a coexistência entre diferentes tipos de milho, foram tomadas medidas como distâncias mínimas entre cultivos e escalonamento nas datas de plantio para evitar a sobreposição de floração. No caso de cultivos geneticamente modificados para a produção de proteínas terapêuticas, as medidas de gestão de riscos são muito mais rígidas: os cultivos devem ser estabelecidos em áreas remotas e a colheita deve ser armazenada em locais apropriados e em containers fechados, para garantir seu uso confinado.

Coexistência

A coexistência não é um tema de risco ambiental, mas sim uma questão de fundo socioeconômico, comercial ou até mesmo de monitoramento. Desde o início da indústria de sementes há mais de um século, observou-se a necessidade de manter puras as variedades, objetivo difícil de ser atingido uma vez que estas cruzam durante a produção de sementes devido à polinização aberta. Portanto foram definidas distâncias de separação entre as matrizes na produção de sementes. No entanto, para algumas culturas é inviável impedir totalmente a polinização cruzada. Assim, foram estabelecidos limiares para a presença de sementes adventícias de uma variedade em um lote de outra. Por exemplo, em alguns casos, a pureza varietal é determinada no campo de produção de semente e, na maioria dos casos, não se admite a presença de mais de duas plantas atípicas. Estes níveis são suficientemente baixos para

não afetar as características de uma variedade determinada, isto é, o uso de limiares é o que permite a coexistência de produção de várias variedades de sementes, assim como a coexistência da produção de sementes com a produção agrícola vizinha. Note-se que o uso de limiares não só permite a coexistência de diferentes variedades de uma cultura, mas também permite a coexistência de diferentes tipos de agricultura, como a agricultura convencional, a orgânica e a transgênica. O estabelecimento de limiares permite a coexistência, já que a tolerância zero (limite nulo) só pode ser alcançada através da proibição da utilização de uma variedade ou um tipo de agricultura, com controles rigorosos para fiscalizar o cumprimento das proibições.

Devido a muitos fatores, a percepção pública pode chegar a exigir um controle excessivamente rigoroso sobre o impacto dos OGM no meio ambiente, mediante um sistema de monitoramento geral, mesmo se a avaliação de riscos não identificou riscos novos ou específicos. É preciso lembrar que, até agora, em nenhum caso cientificamente provado foi detectado um produto avaliado pelos órgãos reguladores nacionais que tivesse provocado danos ao meio ambiente ou aos consumidores.

Considerações para o monitoramento pós-liberação comercial

Quando a avaliação preliminar identifica riscos significativos que não estão totalmente resolvidos antes da comercialização do OGM, pode ser útil um monitoramento pós-liberação comercial focado especificamente no risco identificado.

Por outro lado, um monitoramento geral, sem focar em um determinado risco, não tem base científica e, portanto, se um dano ocorrer, pode ser incapaz de estabelecer uma relação entre causa e efeito.

O Artigo 16 do Protocolo de Cartagena permite que as Partes adotem medidas de gestão de risco. Ainda que o monitoramento pós-liberação comercial possa ser uma medida de gestão de risco adequada, o artigo 16 não exige que as Partes o adotem; as Partes poderão exercer seu próprio julgamento sobre quando e se o monitoramento será adotado.

É pertinente e indispensável que a comunicação de riscos ressalte os aspectos científicos da avaliação de risco e a experiência com o uso do OGM

em vários países, desde o lançamento comercial do primeiro cultivo GM em 1994. É importante lembrar que o OGM avaliado é o resultado de um processo de seleção durante o qual todos os eventos com comportamentos inesperados ou indesejados foram eliminados, e os eventos selecionados passaram por rigorosos critérios de qualidade e segurança, como mostrado na Figura 1. Não há razão concreta para esperar que eventos elite selecionados para comercialização possam comportar-se de modo diferente do esperado. De qualquer forma, é fundamental que a comunicação esteja baseada em informações confiáveis, com um sólido respaldo científico e numa linguagem acessível ao público-alvo.

A comunicação de risco não é um processo unilateral em que uma empresa ou agência governamental comunica ao público-alvo um determinado risco. Pelo contrário, é o processo interativo de troca de informações e opiniões entre indivíduos, grupos e instituições. Muitas vezes envolve a troca de várias mensagens sobre a natureza do risco, preocupações, opiniões ou reações às mensagens de risco ou como o gerenciamento de risco é realizado. Portanto, é um processo que ajuda à gestão de risco e consolida a avaliação de risco, promovendo a internalização da percepção de segurança entre os interessados e, se necessário, a oportunidade para uma reavaliação de algum risco que porventura possa surgir após o lançamento. Uma comunicação eficaz dos riscos reduz a expectativa negativa da população-alvo, prepara as partes interessadas para tomar medidas de mitigação quando necessárias e minimiza a desconfiança que existe muitas vezes sobre o uso do OGM. Por outro lado, fornece informações úteis para planejar as ações de gestão da empresa ou do órgão de fiscalização. A comunicação das agências reguladoras é essencial no processo de construção de confiança na segurança dos produtos regulados de empresas e, no caso das empresas, ajuda a criar uma imagem que deve estar em consonância com sua responsabilidade social.

Comunicação e rotulagem

O Artigo 23 do Protocolo de Cartagena requer às Partes «promover e facilitar a conscientização, educação e participação» do público quanto aos assuntos discutidos no Protocolo sobre os cultivos GM. No entanto, o Protocolo não tem uma exigência em nenhum de seus artigos que requeira às Partes rotular produtos derivados de OGM. Na verdade, a rotulagem obrigatória

representa um grande potencial de conflito com as Barreiras Técnicas ao Comércio (TBT) dos Acordos da Organização Mundial do Comércio (OMC). As Partes do Acordo TBT comprometem-se a tratar «produtos similares» de forma igual, a fim de evitar a discriminação contra os «produtos similares». Rótulos obrigatórios em vários produtos (por exemplo, rótulos de certificado de origem ou de que o produto foi feito sem danos a florestas, etc.) resultaram em várias importantes disputas na OMC e resoluções desfavoráveis às leis e regulamentos de rotulagem obrigatória. Por exemplo, vejam-se as decisões da OMC no caso Canadá e México contra Estados Unidos da América (um caso de rótulo de certificado de origem) e no caso do México contra os Estados Unidos (um rótulo que dizia ser o atum enlatado sem causar danos aos golfinhos).

Capítulo 4

Cenário regulatório

A biossegurança é regulada em vários países por um conjunto de leis, regulamentos, acordos ou políticas. É importante que a lei ou regulamento esteja baseada em princípios científicos sólidos e fundamentados e não em riscos especulativos ou improváveis. A base da precaução é a utilização da avaliação de risco como um elemento preditivo do comportamento futuro antecipado, o que permite a tomada de decisões. A interpretação adequada da precaução deve ser de tal forma a garantir a segurança ambiental e alimentária sem comprometer desnecessariamente os avanços tecnológicos.

Num cenário com responsabilidades claramente atribuídas, os ensaios confinados (experimentos de laboratório e em estufa e liberações planejadas) tendem a ser permitidos pelo órgão regulador sem muita demora, uma vez que é essencial gerar os dados necessários para avaliação de risco do produto no país que quer adotá-lo. Por exemplo, Argentina, Brasil e Colômbia alcançaram maior sucesso em aprovar o uso de cultivos geneticamente

modificados, embora tenham marcos regulatórios muito diferentes. Há quatro pontos comuns entre os três países:

- a** a avaliação de risco só leva em conta a segurança do produto;
- b** os aspectos sociais e econômicos inerentes à adoção do produto são analisados separadamente da avaliação de risco;
- c** a decisão final para a liberação comercial de um produto se baseia principalmente na recomendação formulada pelo avaliador de risco;
- d** e, se as consequências sociais e econômicas resultantes da adoção de um OGM são consideradas prejudiciais ao país, pode-se suspender ou revogar a liberação comercial ou negá-la, de acordo com o fluxograma de tomada de decisão do país.

Cada país deve seguir um procedimento claro para autorizar a liberação comercial de um OGM, que deve estar claramente explicitada no marco legal. Os critérios para um marco regulatório de sucesso já são conhecidos (ACRE-DEFRA, 2007) e estão listados abaixo, indicando-se para cada um se é pertinente à avaliação de risco ou aos outros componentes da análise de risco:

- Considerar tanto os benefícios quanto os riscos (análise)
- Estar baseado em evidencia científica (avaliação e análise)
- Exigir uma oportunidade para avaliar o impacto em pequena escala antes de autorizar o uso amplo (avaliação)
- Basear a análise em uma comparação da nova tecnologia com os cultivos e práticas atuais (avaliação e análise)
- Proteger as oportunidades inovadoras e prevenir descartar a biotecnologia em favor de culturas e práticas mais prejudiciais - balanço riscos/benefícios (análise)
- Ser fácil de adotar (análise)
- Levar em conta a competitividade do sector agrícola (análise)

A comparação entre esses critérios e os quatro pontos em comum entre os sistemas regulatórios dos países que conseguiram adotar os OGM, listados mais acima, demonstra a importância de uma efetiva separação entre avalia-

ção de risco (e a tomada de decisão) e outras considerações sobre o produto, as quais, como mencionado acima, em conjunto com a gestão ou manejo de risco e com a comunicação de risco, constituem a análise de risco.

A importância de um marco regulatório devidamente formulado não deve ser menosprezada. O caso do Brasil serve para ilustrar o tema e está descrito no Anexo I.

SEÇÃO 2

Estudo de casos

Introdução

Este guia desenvolve os fundamentos e requisitos para avaliação de risco e apresenta um roteiro que pode ser adotado para a avaliação de risco ambiental de qualquer OGM. A Seção 2 fornece exemplos específicos de avaliação de riscos conduzidos para diferentes OGM em vários países da América Latina.

A análise de risco ambiental de OGM e a avaliação de risco incorporada neste processo são feitas seguindo um procedimento previamente estabelecido, mas flexível o suficiente para considerar as particularidades de cada OGM (caso a caso e passo a passo), uma vez que cada transgene em cada organismo pode apresentar diferentes riscos. A avaliação dos eventos ou modificações genéticas mais conhecidas é facilitada à medida que aumenta a experiência com o uso seguro de transgênicos nos diferentes países que os produzem comercialmente.

O leitor irá notar que os exemplos de avaliação de risco de OGM apresentados nesta Seção 2 são classificados como de risco baixo ou insignificante. Em parte, isso reflete a experiência com os OGM, uma vez que até o momento os cultivos geneticamente modificados têm sido avaliados como de risco muito baixo, não tendo tampouco sido registrados danos quantificáveis em qualquer país que os tenha adotado. Na verdade, os primeiros cultivos GM não têm a capacidade intrínseca de serem perigosos. No entanto, há exemplos, ainda que hipotéticos, de cultivos e de genes que poderiam apresentar maior risco. Um exemplo é o sorgo tolerante a herbicidas, que pode-

ria ter problemas deletérios de fluxo de genes em áreas onde fosse comum o capim massambará (*Sorghum halepense* - uma erva daninha sexualmente compatível com o sorgo).

Mas talvez a principal razão pela qual a avaliação de risco de muitos transgênicos concluiu que eles apresentam risco insignificante é que, inicialmente, os riscos percebidos pareciam muito maiores do que aqueles que de fato se materializaram. É importante notar que o desenvolvimento da ciência avança mais rápido do que o desenvolvimento de estruturas legais, que ainda mantêm a perspectiva de início dos anos oitenta, onde o conhecimento era muito mais limitado do que é hoje.

Os exemplos também servem para destacar várias questões:

- As metas de proteção são em geral independentes do transgene e do OGM;
- A avaliação de risco de um OGM com genes combinados não é, necessariamente, nem diferente nem mais complexa do que aquela levada a cabo para um OGM de evento único;
- Reguladores ou analistas de risco podem chegar a conclusões que, embora semelhantes, não são idênticas e que correspondem à sua percepção de risco, que às vezes pode ser subjetiva. Exemplos desta situação são os casos de milho e soja (Exemplos 2, 4 e 5). Em conclusão, o processo apenas estima riscos, e as estimativas nem sempre são iguais;
- A avaliação de risco necessariamente reduz a complexidade do sistema. Ao reduzir essa complexidade, é importante garantir que as metas de proteção permaneçam em conformidade com as metas estabelecidas no marco legal de cada país.

Uma importante conclusão a que se chega dos exemplos seguintes de avaliação de riscos, provenientes de diversos países, é a de que o processo não necessita ser complicado para ser eficaz. O importante é manter o foco naqueles perigos ou riscos potenciais que podem ser entendidos ou quantificados a partir de uma perspectiva biológica e que se prestam a experimentação científica. A segunda conclusão é que uma avaliação de riscos robusta, realizada com base na ciência, deve ser o fundamento para a tomada de decisão.

Capítulo 5

Avaliação da segurança ambiental de Organismos Geneticamente Modificados

Como exemplos de avaliação de risco para o meio ambiente, foram selecionados alguns casos para ilustrar a utilização do fluxograma proposto neste documento (Figura 2). A Tabela 1 lista os organismos selecionados, que em sua maioria correspondem a cultivos, o evento de modificação genética, o seu caráter e o meio receptor básico.

Planta	Evento	Genes	Proteínas expressas na planta	Caráter	País
Algodão	MON530	cry1Ac, nptII, aad	Cry1Ac, neomicina fosfotransferase II	Resistência a insetos	Brasil
Milho	GA21	mepsps	5-enolpiruvil shiquimato-3-fosfato sintase	Tolerância a herbicida	Brasil
Feijão	EMB-PV051-1	AtAhas, AC1hpRNA	Aceto-hidroxiácido-sintase (baixos níveis)	Resistência a vírus	Brasil
Soja	GTS 40-3-2	CP4-epsps	5-enolpiruvil shiquimato-3-fosfato sintase	Tolerância a herbicida	Argentina
Milho	MON89034-3 X NK6030-6	CP4-epsps, cry1A-105, cry2Ab	5-enolpiruvil shiquimato-3-fosfato sintase, Cry1A-105, Cry2Ab	Resistência a insetos e tolerância a herbicida	México
Levedura	Y1979	Vários	Várias (produto novo: farneseno)	Produção de farneseno	Brasil

Tabela 1: Lista de eventos selecionados como exemplo de emprego do fluxograma de avaliação de risco proposto. O nome do evento segue as regras internacionais. Somente os transgenes e suas proteínas (quando expressas na planta transgênica) estão indicados.

5.1 Algodão MON531 resistente a insetos

Foi lançado comercialmente no Brasil (em 2005). As células do algodão transgênico expressam um polipeptídeo que corresponde a uma parte da proteína inseticida Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* linhagem HD73. Devido à ação desta proteína, o algodão se torna resistente a vários insetos da ordem Lepidoptera, que são pragas da cultura.

5.1.1 Formulação do problema - o contexto do algodão Bt



Os principais elementos de contexto são o marco legal, a biologia da planta, a construção genética, em particular quanto à produção de novas proteínas, e a geração de novos fenótipos, as principais regiões produtoras (ou seja, o meio receptor) e os organismos impactados. Em alguns casos já existe uma familiaridade quanto ao fenótipo estudado ou ainda um histórico de uso seguro do OGM.

5.1.1.a O marco legal

Desde 2005, o Brasil dispõe de uma legislação específica de biossegurança de OGM, baseada na Lei n° 11.105, no seu decreto e no correspondente conjunto de resoluções normativas que regulam aspectos específicos da biossegurança dos OGM (Brasil, 2010). Para um pedido de liberação comercial, o proponente deve conduzir uma avaliação de risco de acordo com as instruções que se encontram na Resolução Normativa n° 5, que inclui a avaliação de risco ambiental.

Essa resolução contém uma longa lista de perguntas voltadas à identificação de riscos, tendo em conta as metas de proteção consagradas na legislação brasileira ou propostas como relevantes durante os primeiros anos de funcionamento da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). A existência de questões específicas de certa forma facilita a construção de uma avaliação de risco, mas pode trazer dificuldades ao processo quando se trata de um OGM com propriedades novas ou a ser introduzido em um ambiente muito específico. Além disso, a necessidade de se dispor de dados para atender a todas as questões integrantes da resolução, gerados a partir de experiências de laboratório, em casas de vegetação ou em liberações planejadas, aumenta os custos da liberação comercial em níveis incompatíveis com as necessidades de biossegurança.

É de responsabilidade do proponente a identificação dos cenários prováveis de liberação do OGM e toda avaliação previa de risco, seguindo essencialmente os passos descritos na Seção 1 deste guia. Em contrapartida, é responsabilidade do regulador avaliar se as metas de proteção foram identificadas corretamente e todos os dados relevantes para a conclusão final da avaliação de risco foram apresentados.

Uma vez que o pedido de liberação comercial seja aprovado pela CTNBio, o plantio do algodão transgênico ainda dependerá do atendimento às exigências do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, como para qualquer outro produto agrícola. A decisão da CTNBio só pode ser questionada pelos órgãos e entidades de registro e fiscalização do Ministérios da Saúde, Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Ministério do Meio Ambiente e do Ministério da Pesca e Aquicultura, através de um requerimento ao Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS), formado por 11 ministros de Estado, ou diretamente pelo próprio CNBS.

Também fazem parte do marco legal, além da lei nº 11.105 e das resoluções e instruções normativas da CTNBio, outros regulamentos que podem identificar metas de proteção preferenciais, de acordo com as políticas ambientais federal e estaduais.

Além disso, com base nas leis e na Constituição do país, é possível estabelecer metas mais específicas, tais como a proteção às espécies ameaçadas ou icônicas, a preservação ou a melhoria da qualidade da água e do solo, a proteção às espécies benéficas para a agricultura e a defesa dos recursos genéticos do país (por exemplo, as variedades locais ou crioulas).

5.1.1.b A biologia do algodão

Existem mais de 50 espécies de *Gossypium*, mas apenas quatro são regularmente cultivadas (*G. hirsutum*, *G. barbadense*, *G. herbaceum* e *G. arboreum*). O algodão comercial (*Gossypium hirsutum*) é uma planta alotetraplóide, resultante do cruzamento entre dois organismos paleopoliplóides diploidizados (Fryxell, 1979; Wendel, 1989; Wendel et al, 1992), hermafrodita ou andrógena, com os dois gametas (masculino e feminino) na mesma flor, sem incompatibilidade genética ou de sincronia de recepção. O algodão é considerado uma espécie predominantemente autógama, mas a polinização por insetos, especialmente as abelhas, leva a uma taxa natural de cruzamento. Os insetos mais comuns em plantações de algodão variam entre diferentes regiões do Brasil: em Ribeirão Preto (SP) são *Apis mellifera scutellata* (abelhas africanizadas) (50,3%), o besouro *Diabrotica speciosa* (40,8%), outros himenópteros (5,0%), outros besouros (1,7%), Lepidoptera (1,1%) e a abelha *Trigona* spp. (“arapuá”) (1,1%) (Sanchez e Marlebo-Souza, 2004). Com exceção da abelha africanizada e do arapuá, os demais insetos coletam apenas néctar. Coletas realizadas em Brasília (Distrito Federal) sobre *G. hirsutum* e Campina Grande (Paraíba) sobre plantas das espécies *G. barbadense*, *G. mustelinum* e *G. hirsutum* r. *marie-galante* (Pires et al., 2005) identificaram em Brasília 23 espécies de abelhas, e 21 na Paraíba, encontrando apenas quatro espécies comuns às duas áreas. Essas diferenças mostram a necessidade de estudos em diferentes regiões e sistemas de produção de algodão, especialmente nas regiões onde estão as maiores áreas produtoras de algodão no país.

5.1.1.c O meio receptor - As principais regiões produtoras e os organismos impactados

O estudo sistemático da produção agrícola mostra que a produção de algodão (IBGE, 2012) *G. hirsutum* atingiu 4,8 milhões de toneladas em 2011, representando um aumento de 63,5% em relação ao ano anterior e de 53,1% na área a ser colhida, para um total de cerca de 1,2 milhões de hectares. Mato Grosso e Bahia são responsáveis por 82% da produção. A distribuição da produção em diferentes estados está mostrada na Figura 6. Essas áreas se sobrepõem parcialmente a áreas endêmicas de *G. mustelinum* (algodão bravo); a CTNBio seguiu as recomendações do Comunicado Técnico 242 da Embrapa (Brasil, 2005), que indicou zonas de exclusão para o plantio de algodão GM.

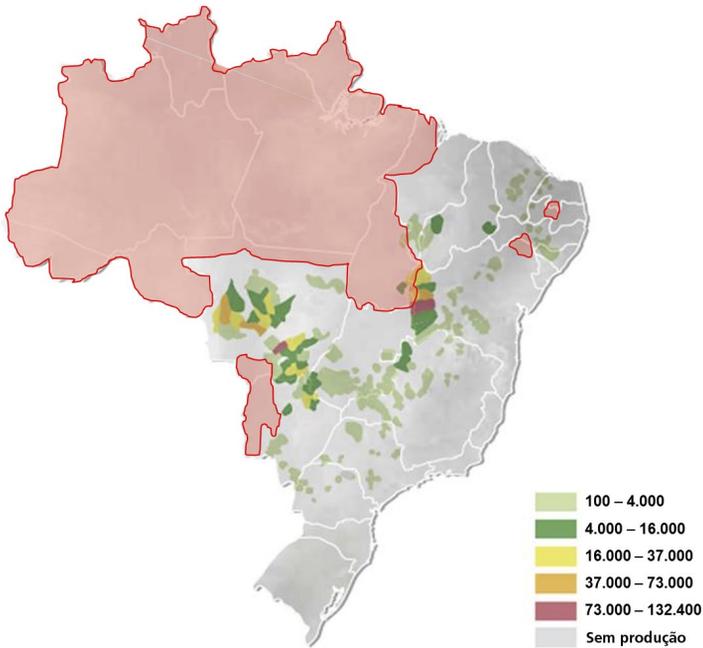


Figura 6: Produção de algodão no Brasil em 2010 (áreas em hectares). Nas áreas indicadas em vermelho não se permite o cultivo de algodão transgênico, devido à presença de *G. mustelinum* ou de espécies asselvajadas (ferais) ou por inaptidão para o cultivo do algodão. [http://www.abrapa.com.br/biblioteca/Documents/estatisticas/brasil/Relat%C3%B3rio%20de%20Gest%C3%A3o%20da%20Abrapa.%20Bi%C3%AAnio%202008-2010%20\(Fonte%20Conab\).jpg](http://www.abrapa.com.br/biblioteca/Documents/estatisticas/brasil/Relat%C3%B3rio%20de%20Gest%C3%A3o%20da%20Abrapa.%20Bi%C3%AAnio%202008-2010%20(Fonte%20Conab).jpg), acessado em 15 de Agosto de 2012

Para o algodão arbóreo, de acordo com os últimos dados do IBGE, a área plantada no Nordeste, tradicional produtora deste tipo de algodão, caiu para menos de 1.000 hectares (IBGE, 2012). Estes dados indicam que o cultivo do algodão arbóreo praticamente desapareceu na região. Por outro lado, o Mato Grosso aumentou a sua produção, com a adoção de novas tecnologias, chegando a seis vezes a produtividade anterior do Nordeste.

O Brasil é o centro de origem da única espécie alotetraplóide, *G. mustelinum*, conhecida como algodão de macaco ou algodão bravo. Esta espécie não parece ser um ancestral do algodão arbóreo *G. hirsutum* r. *marie-galante* Hutch., planta perene, possivelmente originária da América Central e do Caribe (Freire et al., 1998) e cultivada em partes do Brasil. Além das espécies *G. mustelinum* e *G. hirsutum* r. *marie-galante* (algodão mocó), foram identificadas no Brasil as espécies asselvajadas (ferais) *G. barbadense* var. *brasiliensis* (conhecido como inteiro ou rim de boi) e *G. barbadense* (quebradinho). O *G. mustelinum* é encontrado em poucos municípios: Caicó (RN), Crato (CE), Macururé (BA) e Caraíba (BA). Os tipos *barbadense* estão nas fronteiras do Pantanal, na região da Mata Atlântica e da Amazônia brasileira. O Brasil não é considerado centro secundário de diversidade de *G. hirsutum* comercial.

5.1.1.d A construção genética

O evento MON531 foi obtido por transformação de linhagens de algodão mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. O plasmídeo utilizado no processo está mostrado na Figura 7. O gene truncado *cry1Ac* permite a expressão de uma forma truncada da proteína Cry1Ac em vários tecidos das plantas, sob o controle do promotor p-E35S do vírus do mosaico da couve flor. O gene *aad* não está sob o controle de um promotor reconhecido pela planta e, por conseguinte, não se expressa em algodão, e foi incluído apenas para manter o plasmídeo na *Escherichia coli*. Um terceiro gene proveniente de *E. coli*, o *npIII*, está sob o controle de outro promotor do vírus do mosaico da couve flor, p-35S, permitindo a expressão de pequenas quantidades de neomicina fosfotransferase II no tecido da planta. A neomicina fosfotrans-

ferase confere à célula vegetal a resistência à neomicina e à kanamicina. A transformação tem duas cópias completas em tandem inseridas no genoma do algodão e outra truncada.

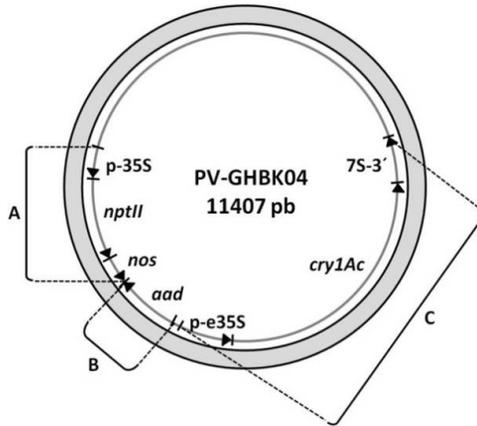


Figura 7: Plasmídeo PV-GHBK04 empregado na transformação do algodão Bt evento MON531. A expressão da proteína neomicina fosfotransferase II, que confere resistência à neomicina em células vegetais, é dirigida pelo promotor p-35S do vírus do mosaico da couve flor e a poliadenilação do mensageiro é determinada pela sequência 3' do gene da nopalina sintase de *A. tumefaciens* (A). O gene *aad* não se expressa na planta, pois está sob controle de um promotor não reconhecido por ela. (B). A proteína Cry1Ac truncada é expressa sob controle do promotor p-E355 e a poliadenilação do mensageiro é determinada pela sequência sinal 7S-3' (C).

5.1.1.e Histórico de uso seguro do evento

Além do Brasil, o algodão é cultivado em muitos outros países. Para a avaliação de risco ambiental é muito importante saber que outros países cultivam variedades geneticamente modificadas, desde quando e se houve danos ao meio ambiente especificamente relacionados com os OGM, uma vez que a *história de uso seguro será sempre um elemento importante na formulação do contexto do problema*. No caso do algodão Bt exemplificado aqui, a autorização para o cultivo tem mais de 10 anos em vários países com um clima semelhante ao do Brasil (Tabela 2) e não existem relatos na literatura de danos ambientais.

País	Plantio	Alimento humano ou animal	Alimento humano	Alimento animal
Argentina	1998		1998	1998
África do Sul	1997		1997	1997
Austrália	1996		1996	1996
Canadá			1996	1996
China			2004	2004
Colômbia	2003	2003		
Coréia			2003	2004
Estados Unidos	1995	1995		
Filipinas			2004	2004
Índia	2002			
Japão	1997		1997	1997
México	1997		1997	1997
União Europeia		2005		

Tabela 2: Ano de autorização de plantio de algodão Bt, expressando o gene Cry1Ac, e o uso como alimento humano ou animal pelas autoridades competentes de vários países. (adaptado de <http://www.cera-gmc.org>).

5.1.2 Formulação do problema – lista de perigos



Nesta parte da avaliação de risco devem ser identificados perigos (com riscos hipotéticos) associados às metas de proteção definidas na etapa anterior (neste caso, optamos por enfatizar os insetos benéficos para agricultura, biodiversidade, etc.). No caso do algodão Bt, é possível elencar vários perigos. Nesta fase, não há necessidade de estabelecer um mecanismo causal cientificamente provável, mas apenas identificar os perigos potenciais, sem preocupação com sua probabilidade real de ocorrência. A lista abaixo resume alguns eventos que poderiam causar danos às metas de proteção, tendo em conta também o ambiente receptor, a biologia e a genética do algodão:

a o fluxo de genes e posterior fixação do transgene (introgressão) em populações selvagens da espécie *G. mustelinum*

b o fluxo de genes e posterior fixação do transgene em espécies e variedades tetraploides asselvajadas ou ferais

c o fluxo de genes e posterior fixação do transgene em espécies não compatíveis = transferência horizontal de genes

d alteração do comportamento e desempenho agrônômico do algodão Bt (invasividade, “weediness”, etc.)

e o impacto negativo sobre invertebrados não alvo (em particular insetos polinizadores)

f o impacto sobre as aves e mamíferos que atacam o algodão

g alterações da microbiota do solo

h alterações na composição mineral e nas propriedades físicas do solo

Embora a determinação dos perigos acima mencionados possa ser bastante especulativa, deve ser preferencialmente baseada em resultados de laboratório e outros dados científicos e na experiência de liberações planejadas e seus efeitos sobre o meio ambiente, levadas a cabo com eventos semelhantes, sempre que disponíveis.

5.1.3 Caracterização do risco



Como exemplo de perigos que têm um fundamento científico claro são considerados inicialmente (a) e (e) da lista anterior.

A biologia do algodão indica a real possibilidade de hibridação interespecífica: as espécies cultivadas e algumas as espécies selvagens (em particular, *G. mustelinum*) são sexualmente compatíveis e várias espécies de abelhas polinizam as flores. Como a espécie *G. mustelinum* é uma meta de proteção, de acordo com a legislação brasileira de proteção à biodiversidade, é relevante avaliar o risco (ou seja, o fluxo de genes) e danos associados (ou seja, uma possibilidade de introgressão dos transgenes, supondo que a sua presença seria danosa à espécie nativa).

Considerando que o algodão comercial se reproduz predominantemente por autopolinização e tem uma baixa taxa de polinização por insetos, é muito improvável que o transgene seja passado para as outras espécies do gênero e que sofra introgressão pelas razões que se seguem:

- O algodão comercial é tetraploide e sexualmente incompatível com as espécies de algodão diploides, cultivadas ou silvestres.
- Embora cruzamentos com espécies tetraploides de *Gossypium* silvestre sejam possíveis no Brasil, nas áreas de produção de algodão comercial em geral não ocorre o *G. mustelinum* ou, quando existe, não há proximidade suficiente para permitir cruzamentos.
- Também não é comum a presença de *G. hirsutum* r. *marie-galante* ou *G. barbadense* nas proximidades de plantações comerciais de algodão.

Assim, o fluxo de genes para as populações selvagens de *G. barbadense* ou *G. hirsutum* r. *marie-galante* será muito limitado. Híbridos não são competitivos em ambientes silvestres e seu estabelecimento no ambiente é improvável. Se o transgene for fixado em uma população de híbridos, o porte das plantas, seu hábito perene, seus ambientes restritos e sua baixa fertilidade natural permitirão um controle fácil (Percival et al., 1999).

Da mesma forma, a proteína inseticida Cry1Ac, embora seja considerada específica para certos grupos de Lepidoptera, poderia ter consequências nefastas para a população de insetos não alvo se fosse letal para uma ou mais espécies que merecem proteção (quer por serem ameaçadas, quer pela sua utilidade no ambiente agrícola, ou por qualquer outro motivo relevante, previamente identificado na formulação do problema). É evidente que o número de insetos não alvo é muito grande, então é preciso eleger uma ou duas espécies representativas para estudar (os pontos finais de avaliação). Para o caso específico do algodão no Brasil, nenhum inseto que frequenta as plantações foi identificado como suscetível à proteína.

Entre os demais perigos listados, somente (b) é baseado na biologia do algodão; neste exemplo não serão discutidos riscos e consequências do fluxo de genes e da fixação do transgene em algodão comercial não GM, uma vez que esta questão (coexistência) não faz parte da avaliação de risco. O fluxo horizontal de genes é extremamente improvável. A presença de apenas um gene adicional em um genoma com mais de 20.000 genes não pode causar alterações no comportamento, nem estes foram observados em experiências controladas em campo. O impacto negativo de algodão em aves e outros vertebrados é improvável porque a proteína Cry1Ac é tóxica somente para certos lepidópteros. Na verdade, o mecanismo de ação desta proteína é bem conhecido. Além disso, ela é facilmente degradável nos fluidos gástricos

de mamíferos e aves. Também não há razão para acreditar que a proteína Cry1Ac pode afetar os microrganismos do solo, que naturalmente contém várias estirpes de *B. thuringiensis* em grandes quantidades. Por fim, os estudos de campo indicam que não há impacto sobre outros invertebrados.

Da mesma forma, nenhuma mudança é esperada na composição do solo, porque a proteína é rapidamente degradada no meio ambiente e não interage com os componentes do solo de forma inespecífica ou com organismos não alvo.

Uma vez feito isso, a estimativa do risco pode começar.

5.1.4 Estimativa do risco



Com base na lista de perigos elaborada no passo anterior, procede-se ao estudo do binômio probabilidade de exposição/efeitos (consequências) da exposição (Figura 4) para a estimativa dos riscos de cada perigo, no contexto previamente definido. Tendo em conta apenas os dois perigos discutidos em detalhe no item anterior, pode-se determinar:

a para o fluxo de genes e introgressão: as distâncias de polinização, a viabilidade e competitividade dos híbridos interespecíficos, testes de híbridos na natureza e vantagem seletiva conferida pela construção genética.

b para o impacto sobre insetos não alvo: determinar um ou dois insetos que representam a fauna de visitantes do algodão em cada região, que sejam filogeneticamente próximos (quando possível) das espécies de interesse. A hipótese de dano pode ser testada de forma segura em laboratório através de ensaios de alimentação com dietas contendo a proteína inseticida.

As abordagens anteriores devem gerar dados confiáveis para a avaliação de risco dos dois pontos acima. Muitos desses dados estão disponíveis em publicações científicas. Quando não há dados suficientes, o proponente do pedido de liberação comercial deve gerá-los em experimentos de laboratório ou a campo. Entretanto, se a introgressão do transgene através do cruzamento entre o algodão GM e as espécies sexualmente compatíveis não é esperada, não faz sentido solicitar estudos adicionais.

Como uma aplicação específica do algoritmo de estimativa de risco (Figura 4) apresenta-se a seguir o detalhamento dos dados relativos às questões (a) e

(e). As considerações abaixo são parte da rota ao dano detalhada na Figura 3 do primeiro capítulo deste guia.

O cruzamento entre o algodão comercial e as outras espécies tetraploides parece ser pouco frequente e os híbridos não são competitivos. Por outro lado, o gene pode, na verdade, conferir uma pequena vantagem seletiva, mas somente se a proteína Cry for também eficaz contra predadores do organismo identificado como meta de proteção, e se a pressão de seleção exercida pela praga é significativa em ambientes silvestres, ou ainda se pragas comuns do algodoeiro comercial podem restringir significativamente as populações de outros algodoeiros. Se estes critérios forem válidos, é possível que a vantagem se manifeste, em particular em áreas em que o cultivo do algodão aumenta significativamente a população de insetos praga. Acontece que, no Brasil, as poucas áreas onde há *G. mustelinum* não têm potencial para a adoção de cultivos comerciais. Como se mostrou acima, tampouco se esperam cruzamentos frequentes com as outras espécies tetraploides. Pode-se admitir que, no pior dos casos, a consequência da fixação do transgene seria mínima, uma vez não haveria dano a todos os indivíduos, não conduziria à extinção (pelo contrário, conferiria resistência a um ataque que de outra forma poderia ser perigoso para a existência de *G. mustelinum*) e é reversível em um prazo moderado pelas características intrínsecas do algodão tetraploide. Por outro lado, pode-se também estimar que a frequência de introgressão seja baixa ou rara (muito baixa); além disso, como as áreas de culturas comerciais não costumam ser contíguas às áreas endêmicas de *G. mustelinum*, pode-se também prever que este tipo de fixação do transgene não ocorreria (frequência muito baixa) pela ausência de pressão seletiva (ataque de insetos em quantidades necessárias). Logo, pode-se concluir que a probabilidade de danos seria rara (muito baixa). A aplicação do algoritmo da Figura 4 indica, como mostrado na Figura 8 abaixo, que os riscos serão insignificantes ou baixos. A distinção entre os dois níveis de risco depende da presença de *G. mustelinum* e espécies selvagens em áreas de algodão comercial.

		ESTIMATIVA DE RISCO			
PROBABILIDADE	MUITO ALTA	BAIXA	MODERADO	ALTO	ALTO
	ALTA	BAIXA	BAIXA	MODERADO	ALTO
	BAIXA	INSIGNIFICANTE	BAIXA	MODERADO	MODERADO
	MUITO BAIXA	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAIXA	MODERADO
	MARGINAL	MENOR	INTERMEDIÁRIA	GRANDE	
CONSEQUÊNCIA					

Figura 8. Estimação de risco da introgressão do gene *Cry1ac* em *Gossypium mustelinum*. A introgressão do transgene (passo essencial para que haja dano) não afetará todos os indivíduos de uma população, tampouco todas as populações, pode ser revertida e não demanda tempo prolongado para sua reversão. A probabilidade (frequência) de dano pode ser considerada muito baixa. Portanto, o risco de dano ao ambiente advindo da introgressão é insignificante.

No caso dos insetos não alvo, o dano (impacto negativo) da proteína Cry1Ac só é observado em doses várias ordens de grandeza maiores do que a dose à qual os insetos são expostos em campo. Os estudos de campo devem ser evitados neste caso, uma vez que são complexos e sujeitos a muitas variações para além do controle do experimentador, e acabam gerando dados difíceis de interpretar. De fato, para as doses de Cry1Ac encontradas no algodão, o dano esperado é marginal ou, no máximo, de menor importância. A frequência de danos, neste caso, é também muito baixa. Finalmente, conclui-se que o risco é negligenciável (insignificante).

5.1.5 A tomada de decisão



Após estimar os riscos para os perigos individuais identificados na caracterização dos riscos, o avaliador de risco pode concluir sobre a segurança ambiental do algodão Bt. Em geral, os vários riscos não se somam, mas devem ser tomados em conjunto pelo avaliador na sua decisão final.

O processo descrito aqui é essencialmente semelhante ao seguido pela CTNBio na avaliação ambiental do algodão Bt MON531, antes da liberação para o plantio comercial, em 2005. No entanto, a CTNBio decidiu pela cria-

ção de algumas áreas de exclusão de plantio desta variedade de algodão GM, o que deve ser revisto agora, decorridos mais de cinco anos da adoção da tecnologia. A adoção de áreas de exclusão pode ter sido o resultado de uma abordagem de precaução talvez excessiva.

Até o momento não houve nenhum dano ao meio ambiente, apesar da crescente adoção de variedades de algodão geneticamente modificado no Brasil. Esta é uma demonstração de que uma avaliação adequada dos riscos ambientais oferece ao país a oportunidade de adoção de tecnologias inovadoras, sem comprometer a biodiversidade.

5.2 Milho GA21 tolerante ao herbicida glifosato

Para aprofundar o conhecimento sobre a avaliação de risco, é conveniente tomar como exemplo outra planta com características diferentes da fenologia de algodão e uma ampla utilização na agricultura, como o milho, cuja domesticação foi intensa ao longo dos séculos.

Para este caso, vamos usar o milho GA21 que é tolerante ao herbicida glifosato e foi lançado comercialmente no Brasil em 2008. As células do milho transgênico expressam a enzima EPSPS. Graças à atividade desta enzima, o milho torna-se tolerante a herbicidas que contêm glifosato como ingrediente ativo. A previsão para a safra brasileira 2012/2013 envolve o uso de 87% de sementes transgênicas no plantio principal (“safra”) e 62% na safra secundária (“safrinha”) (Céleres, 2012).

5.2.1 Formulação do problema – o contexto do milho GA21.



Como discutido anteriormente neste guia, os principais elementos do contexto são o marco legal, a biologia da planta, a construção genética (particularmente no que diz respeito à produção de novas proteínas e na geração de novos fenótipos), as principais regiões produtoras (ou seja, o meio receptor) e os organismos impactados. Em alguns casos já há uma familiaridade quanto ao fenótipo estudado ou uma história de uso seguro do OGM. Assim, seguir-se-á os passos do exemplo anterior, para entender as peculiaridades desse milho.

5.2.1.a O marco legal

A descrição do marco regulatório brasileiro está detalhada no exemplo anterior. Até agora, apenas três eventos de milho com tolerância a herbicida estão aprovados: eventos T25, NK603 e GA21. Os outros milhos GM envolvem resistência a insetos ou cruzamentos entre as duas características.

Além disso, com base nas leis e na Constituição do país, é possível definir metas de proteção específicas, como a proteção de espécies ameaçadas de extinção ou icônicas, a conservação ou melhoria de qualidade da água e do solo, a proteção de espécies benéficas para a agricultura e a salvaguarda dos recursos genéticos do país (por exemplo, as variedades locais ou crioulas).

5.2.1.b A biologia do milho

O milho é uma planta alógama (polinização cruzada), sendo a transferência de pólen feita predominantemente pelo vento. A propagação do pólen, por isso, é determinada pela velocidade e direção do vento, e pode ocorrer a longas distâncias se as condições forem favoráveis, mas a viabilidade do pólen pode ser comprometida em condições de baixa umidade do ar. Em condições ótimas, o pólen pode permanecer viável por até 24 horas.

O milho cultivado (*Zea mays* spp. *mays*) pertence ao gênero *Zea*, ao qual pertencem outras espécies silvestres, conhecidas coletivamente como teosintetos (*Zea mexicana* e *Zea diploperennis*), com centro de origem na Guatemala e no México. Borém (2001) fez um levantamento de muitos autores que descreveram cruzamentos entre *Zea mays* e seus parentes silvestres como *Zea mexicana*, *Zea diploperennis* e *Tripsacum*. O último gênero inclui espécies que podem ser cruzadas artificialmente com o milho, mas as sementes geradas são estéreis na sua maioria ou geneticamente instáveis (Manglesdorf, 1974). O gênero *Tripsacum* é caracterizado por possuir a maioria das populações poliploides e que se reproduzem por apomixia, isto é, reprodução assexuada, de modo a que o genótipo da semente é idêntico ao da planta que a produziu.

A forma como o milho se reproduz por cruzamentos naturais é bem conhecida há séculos: os índios da América Central e do Sul já realizavam o melhoramento por seleção massal, e ao longo dos anos, estes materiais serviram como base para a produção das primeiras variedades interraciais que resultaram na base genética dos milhos modernos.

Usando a autofecundação, os cientistas criaram linhas chamadas «puras» ou consanguíneas (através de autofecundação ao longo de várias gerações). Os cruzamentos entre estas linhas resultaram numa importante ferramenta da agricultura, a heterose, e um produto importante, o híbrido. A heterose é uma das principais técnicas utilizadas no melhoramento de plantas e particularmente para o milho é o principal método recomendado para o melhoramento (Paterniani, 2001).

A partir de 1930, a cultura do milho tornou-se mais pesquisada, com ganhos notáveis na morfologia e na produtividade de grãos, fruto do trabalho de cientistas de institutos de pesquisa públicos e privados. Desde então, os híbridos na cultura do milho representam uma parcela importante da produção global. O milho está presente em toda a cadeia alimentar humana e animal. Para mais informações sobre a biologia do milho, ver 5.5.1.b.

5.2.1.c O meio receptor – As principais regiões produtoras de milho e os organismos impactados

O milho é provavelmente a mais importante cultura no Mundo, depois do arroz, o que pode ser corroborado pela sua ampla aplicação em vários setores da indústria alimentar, uma vez que a maior parte da sua produção é destinada à indústria alimentar animal. No entanto, em alguns países, os produtos feitos de milho são a principal dieta humana diária. Os dados de produção anual nos principais países produtores estão disponíveis na Tabela 3.

O Brasil ocupa a posição de terceiro maior produtor de milho, com 53,2 milhões de toneladas em 2009/2010. A maior parte da produção é dirigida à indústria de alimentos para animais, tal como indicado acima, mesmo uso primário nos Estados Unidos e na China.

O milho é cultivado no Brasil em diferentes sistemas de produção, principalmente nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. Seu processamento inclui a produção de farinha, óleo, amido, margarina, xarope de glicose, alimentos e concentrados. A produção brasileira é caracterizada pela divisão em duas temporadas, conhecidas como «safra» e «safrinha».

A cultura do milho no Brasil é altamente tecnicizada e a presente safra foi produzida em condições climáticas favoráveis, resultando em alta produtividade. A área plantada na safra de milho de 2011/2012 foi de 7,94 milhões de hectares, e na safrinha de 7,20 milhões ha. (CONAB, 2012).

País/Ano	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Estados Unidos	28.710	29.798	30.399	28.587	35.015	31.796	32.209
China	24.093	25.467	26.379	28.483	29.497	29.883	30.479
Brasil	12.966	12.411	11.549	12.613	13.767	14.445	13.791
México	7.521	7.688	6.606	7.295	7.333	7.354	7.200
Argentina	2.323	2.339	2.783	2.447	2.838	3.412	2.337
Índia	7.343	7.430	7.588	7.856	7.770	8.300	8.400
França	1.685	1.821	1.658	1.503	1.531	1.702	1.680
Indonésia	3.359	3.357	3.626	3.346	3.630	4.003	4.161
África do Sul	3.651	3.204	3.223	2.032	2.552	2.799	2.428
Ucrânia	1.989	2.300	1.660	1.720	1.903	2.440	2.089

Tabela 3: Comparativo da área cultivada com milho nos principais países produtores em 2003-2009. Os valores indicam a área em milhares de hectares (adaptado de <http://cimilho.cnpms.embrapa.br/estatisticas/estatisticas.php?tabela=001>). Acessado em 20/05/2012.

5.2.1.d A construção genética

O evento GA21 foi obtido por biobalística, resultando na integração cromossômica de uma construção em uma célula única. Esta foi regenerada para originar uma planta geneticamente transformada. O gene do evento GA21 confere às plantas de milho a tolerância ao herbicida glifosato graças à expressão da enzima EPSPS (5-enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintase). O vetor de

transformação (Figura 9) tem o promotor e a sequência do íntron do gene da actina do arroz (constitutivo), o peptídeo de trânsito da enzima ribulose-1,5-bifosfato sintase – RuBisCo – do milho, que dirige a enzima EPSPS para o cloroplasto, onde ocorre a biossíntese dos aminoácidos aromáticos, e o terminador NOS 3', obtido da região 3' não traduzida do gene da nopalina sintase (que atua como sinal de poliadenilação do mRNA). O plasmídeo foi construído para a expressão da proteína EPSPS com duas mutações que alteram os aminoácidos das posições 102 (treonina para isoleucina) e 106 (prolina para serina). A enzima mEPSPS tem uma identidade superior a 99,3% com a proteína do tipo selvagem (endógena) do milho.

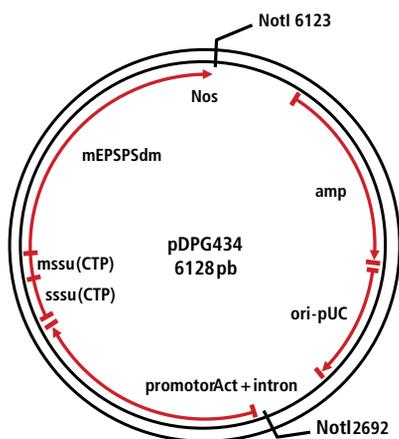


Figura 9: Vetor pDPG434, derivado do plasmídeo pSK (oriundo do pUC19). O fragmento de restrição Not1 do cassete de expressão contém o promotor e a sequência do íntron da actina do arroz, o peptídeo de trânsito da enzima ribulose-1,5-bifosfato sintase – RuBisCo – do milho, que dirige a enzima EPSPS para o cloroplasto, e o terminador NOS 3', obtido da região 3' não traduzida do gene da nopalina sintase. O fragmento contém, portanto, todo o cassete de expressão da enzima mEPSPS, mas não contém a origem de replicação, o gene *bla* (*ampR*) ou a sequência parcial *lacZ*.

5.2.1.e Histórico de uso seguro do evento

O milho GA21 já vem sendo comercializado em 15 países, de acordo com a Tabela 4.

País	Plantio	Alimento humano ou animal	Alimento humano	Alimento para animais
África do Sul		2002		
Argentina	1998	2005		
Austrália			2000	
Brasil	2008	2008		
Canadá	1998		1999	1998
China		2004		
Coréia			2002	2005
Estados Unidos	1997	1996		
Filipinas	2009		2003	2003
Japão	1998		1999	1999
México		2002		
Rússia			2007	2007
Taiwan			2003	
União Europeia			2006	2005
Uruguai	2011	2011		

Tabela 4: Ano de autorização de plantio de milho GA21, que expressa o gene *mepsps* e para uso como alimento humano ou animal pelas autoridades competentes de vários países (adaptado de <http://www.cera-gmc.org>). Acessado em 20/05/2012.

5.2.2 Formulação do problema – lista de perigos



Como parte de um exercício de comparação com as experiências de outras liberações (planejadas ou comerciais) de eventos similares (sejam nacionais ou em outros países), pode-se definir uma lista de perigos que envolvem metas de proteção hipotéticas, o ambiente receptor e a biologia de milho. Portanto, considerando que esta tecnologia é direcionada à tolerância a herbicidas (que é uma característica importante para países que adotam o sistema de plantio direto), alguns pontos podem ser destacados como sensíveis e, portanto, representam perigos hipotéticos:

- a** Fluxo de genes para espécies silvestres ou ferais;
- b** Transferência horizontal de genes para organismos sexualmente incompatíveis;
- c** Alterações nos aspectos botânicos do milho;
- d** Impactos em organismos não alvo;
- e** Alteração da microbiota do solo ou de sua composição e propriedades físicas;
- f** Transferência do gene de tolerância do milho para plantas daninhas;
- g** Aparecimento de plantas daninhas tolerantes a herbicida devido ao aumento significativo do uso do herbicida, sem transferência de genes do milho para as plantas daninhas.

5.2.3 Caracterização do risco



Quanto ao fluxo de genes (perigos a, b e f), não existem no Brasil parentes ancestrais do milho, populações ferais ou silvestres. Há apenas o registro de variedades conhecidas como “crioulos” (ver caixa abaixo). Como já foi mencionado, o milho é uma planta polinizada predominantemente pelo vento. O pólen pode ser disperso por alguns metros e a fecundação pode ser comprometida por alterações da receptividade da planta ou por condições climáticas. A possibilidade de cruzamentos entre populações de milho foi uma das principais ferramentas que as civilizações antigas usaram para domesticar o milho.

É comum tomar-se o impacto potencial dos OGM em raças locais (ou variedades crioulas) como um impacto na biodiversidade. As raças locais são uma importante fonte de alelos para o melhoramento do milho, mas não representam um elemento vital da biodiversidade. A controvérsia é estabelecida devido à definição inadequada do que é uma raça local de milho. Abaixo está a definição de consenso.

Raça local ou variedade crioula ("landrace") de milho: raça local de polinização aberta, adaptada a uma determinada região, resultante de cruzamento ou de gerações melhoradas de genótipos de milho plantadas por várias gerações, que é usada diretamente pelo pequeno produtor para consumo como alimento humano ou animal.

Além do fluxo de genes, é importante considerar, do ponto de vista genético, que a transferência de um gene não significa a sua fixação na população. No caso do fluxo de genes para variedades de milho, não há danos descritos diretamente derivados do fluxo; até mesmo alguns germoplasmas mais empregados no melhoramento do milho, como o Tuxpeño Azteca (para variedades tropicais) e Dent Corn Belt (para variedades de clima temperado), foram o resultado do fluxo de genes entre variedades de milho, feito pelos próprios índios que, propositalmente, misturavam milhos para aumentar o fluxo de genes e gerar variedades mais produtivas (Brown e Goodman, 1977).

Ao contrário, quando não se respeitam as características reprodutivas do milho, podem ocorrer danos reais (especialmente, danos sociais ou econômicos), como a perda de algumas variedades, como ocorreu com uma tribo indígena do Brasil Central, que perdeu sua variedade tradicional (um milho com sabugo fino e longo, com grãos amiláceos de várias cores). O resgate só foi possível porque a Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) mantém o acesso à variedade em seu banco de germoplasma.

Devido às características reprodutivas, o fluxo gênico de milhos GM para variedades crioulas de polinização aberta é possível, mas representa o mesmo risco causado pelo fluxo advindo de genótipos comerciais disponíveis no mercado. É importante considerar que mais de 80% do milho plantado no Brasil é proveniente de sementes melhoradas.

A proteína EPSPS pertence à via metabólica do ácido shiquímico, uma rota que não existe nos mamíferos, mas é comum em plantas e microrganismos. Portanto, esta rota está presente no milho convencional. É uma proteína amplamente estudada, sem histórico de alergias, facilmente degradada no trato digestivo e tem uma longa história de uso seguro. As duas alterações introduzidas na sequência de aminoácidos da EPSPS não mudam a sua estrutura ou atividade biológica. Tampouco é razoável imaginar que esta proteína possa afetar microrganismos do solo, uma vez que é naturalmente abundante nessas populações (perigo e).

Ao adicionar uma via alternativa para a síntese de aminoácidos aromáticos (função da EPSPS) para o cloroplasto, não foram observadas alterações nos aspectos botânicos de milho (perigo c), sendo seu desempenho agrônômico exatamente igual ao do milho convencional, exceto pela tolerância ao glifosato. Esta característica confere uma vantagem competitiva apenas na presença do herbicida; deve-se considerar ainda que o milho é uma planta altamente domesticada e não se esperam reversões ao estado silvestre ancestral indesejável.

Além disso, como discutido anteriormente, esta rota envolve um fenótipo que não confere resistência a insetos, ou seja, não há qualquer correlação cientificamente fundamentada de que a expressão da proteína EPSPS poderia afetar populações de organismos não alvo ou pragas culturais (perigo d).

Do mesmo modo, não são esperadas alterações nas características do solo, uma vez que a proteína EPSPS é ubíqua nesta matriz (perigo e).

5.2.4 Estimação do risco



As considerações a seguir são parte da rota ao dano, detalhada na Figura 3 do primeiro capítulo deste guia.

Do ponto de vista da biossegurança, a introdução do gene *mepsps* e sua expressão na planta GM não trazem novos perigos à segurança dos alimentos ou ao ambiente, tal como indicado pelos dados científicos obtidos em experimentos de laboratório ou a campo. Para a aplicação do algoritmo probabilidade *versus* consequências, resta apenas a hipótese de que a introdução de culturas tolerantes a herbicidas resultaria num aumento do uso do herbicida específico para aquela cultura, o que poderia levar ao aparecimento de plantas daninhas tolerantes ao herbicida. É imperativo perceber que este

problema não está relacionado com a modificação genética, mas com o uso da tecnologia, e que este risco não é novo, uma vez que ocorre rotineiramente na agricultura convencional.

Quanto aos danos prováveis, é preciso considerar que os sistemas de produção que utilizam o plantio direto dependem do uso de herbicidas. É fundamental também lembrar que essas substâncias já estão presentes nos agroecossistemas, com todas as suas práticas de gestão, especialmente a rotação de culturas. Pode-se então considerar que a resistência é um fenômeno natural, conhecido e documentado. Para controlar o aparecimento de ervas daninhas resistentes ao glifosato, o agricultor pode empregar técnicas agrícolas como manejo integrado ou o uso de outros herbicidas.

Poder-se-ia também considerar que o plantio de culturas GM resistentes a herbicidas poderia levar a um maior emprego do herbicida. Sobre isso, um grande estudo mostra exatamente o oposto, uma redução global da ordem de 393 milhões de quilos de agrotóxicos (Brookes & Barfoot, 2010) consequentes à adoção de culturas geneticamente modificadas no mundo. O que vemos muitas vezes é a substituição de produtos de classe toxicológica alta por produtos menos tóxicos, o que é uma vantagem para o consumidor, para o agricultor e para o meio ambiente. A segurança dos produtos químicos depende, naturalmente, do cumprimento rigoroso das recomendações de uso.

Como visto acima, os supostos perigos individuais apontados no passo de caracterização do risco não conduzem a um cenário com riscos diferentes daqueles já presentes no plantio de milho convencional. Os perigos da tecnologia de tolerância a herbicidas (HT) se relacionam mais com o manejo adequado da lavoura do que com a introdução do gene *mepsps* e sua expressão na planta transformada. Estas conclusões são apoiadas pelo fato de que há uma vasta informação sobre a segurança desta proteína, pelo fato de que a cultura de milho é muito bem conhecida e pela história do uso seguro do evento GA21 em outros países.

Neste caso específico, a conclusão é que os danos ambientais associados ao milho GA21 são marginais e que a probabilidade de ocorrência é baixa ou muito baixa. Por conseguinte, a aplicação destas estimativas ao algoritmo da Figura 4 leva à figura abaixo (Figura 10) e à conclusão de que os riscos são insignificantes.

		ESTIMATIVA DO RISCO			
		BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
PROBABILIDADE	MUITO ALTA	BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
	ALTA	BAIXO	BAIXO	MODERADO	ALTO
	BAIXA	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO	MODERADO
	MUITO BAIXA	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO
	MARGINAL	MENOR	INTERMEDIÁRIA	GRANDE	
		CONSEQUÊNCIA			

Figura 10: Estimação dos riscos globais associados aos perigos avaliados no item 5.2.3. Para todos os casos, os danos esperados são marginais, e suas probabilidades de ocorrência são nulas ou baixas. O risco de impactos ambientais do milho GA21 é, conseqüentemente, insignificante.

5.2.5 A tomada de decisão



Dos riscos avaliados na seção anterior, o único que pode levantar preocupações ambientais é a alteração do germoplasma de populações de variedades crioulas. Na verdade, estas variedades são frequentemente consideradas como parte importante dos recursos genéticos nacionais e, portanto, estão incluídos nas metas de proteção descritas no item 5.1.1.a. No entanto, a probabilidade de ocorrência de uma mudança importante e generalizada da base genética de raças locais no Brasil tem sido considerada muito baixa porque, apesar de poderem ocorrer alterações locais, estas não seriam maiores do que a esperada pela proximidade com híbridos de milho ou de linhas convencionais melhoradas não GM. Nesta abordagem, a presença do transgene por si só não é considerada prejudicial.

Em conclusão, a avaliação de risco para a liberação comercial de milho GA21 tolerante ao herbicida glifosato indica sua segurança ambiental, o que levou o Brasil e outros 14 países a adotá-lo em seus territórios.

5.3 Feijão Embrapa 5.1 (EMB-PV051-1) resistente ao vírus do mosaico dourado

Este feijão foi aprovado comercialmente no Brasil em 2011, com lançamento comercial previsto para 2014. O evento Embrapa 5.1, desenvolvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), foi gerado usando

a estratégia de interferência de RNA (RNAi) e é altamente resistente ao vírus do mosaico dourado do feijoeiro [a nomenclatura oficial em inglês é bean golden mosaic virus (BGMV)].



Figura 11. Feijão Embrapa 5.1 resistente ao vírus do mosaico dourado - BGMV (esquerda): sem sintomas. Variedade Olathe (isolinha não transformado) (direita): entre 18 e 90% das plantas apresentam sintomas.

5.3.1 Formulação do problema – o contexto do feijão resistente a vírus



Os elementos principais do contexto são o marco legal, a biologia da planta, a construção genética (especialmente no que diz respeito à produção de novas proteínas e à geração de novos fenótipos), as principais regiões produtoras (isto é, o meio receptor) e os organismos impactados. Em alguns casos, já há uma familiaridade sobre o fenótipo estudado ou uma história de uso seguro do OGM.

5.3.1.a O marco legal

A descrição detalhada do marco regulatório brasileiro está disponível no exemplo 5.1, subitem 5.1.1.a.

Além disso, com base nas leis e na Constituição do país, é possível definir metas de proteção específicas, como a proteção de espécies ameaçadas de extinção ou icônicas, a conservação ou melhoria de qualidade da água e do solo, a proteção de espécies benéficas para a agricultura e a salvaguarda dos recursos genéticos do país (por exemplo, as variedades locais ou crioulas).

5.3.1.b A biologia do feijoeiro

i Centros de origem e de diversidade

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) teve origem no Novo Mundo, segundo a abordagem fitogeográfica desenvolvida por Vavilov (1951). Assume-se que *P. vulgaris* foi independentemente domesticado na Meso-América e na região sul dos Andes (Gepts, 1998; Gepts et al., 2008; McClean et al., 2008; Kwak et al., 2009; Aragão et al., 2011). Um centro secundário de diversidade se encontra nas terras altas do Peru. Também foi proposto um centro adicional de domesticação na Colômbia. A evidência morfológica indica que o feijão selvagem, que originou o feijoeiro comum, é amplamente distribuído nos Estados Unidos e México ocidental até o nordeste da Argentina, em cerca de 7.000 quilômetros de áreas montanhosas, mas não no Brasil. O germoplasma do feijão cultivado pode ser dividido em um número variável de linhagens de acordo com dois sistemas propostos por Evans (1973) e Singh (1989). O tipo selvagem, seja aquele originário do México ou da Argentina, pode produzir híbridos viáveis com as formas cultivadas de *Phaseolus vulgaris*, e, portanto, é considerado pertencente à mesma espécie biológica.

ii Outros aspectos da biologia do feijoeiro

A domesticação do feijoeiro produziu plantas com crescimento compacto, ereto, apresentando gigantismo das partes vegetativas, o que aumenta o tamanho das vagens e sementes; também houve perda de sensibilidade ao fotoperíodo e da latência em semente, reduzindo-se também a deiscência das vagens (Smartt, 1978, 1980).

O gênero *Phaseolus*, que tem todas as espécies diploides ($2n = 22$), inclui muitas espécies, das quais apenas quatro são cultivadas: *Phaseolus vulgaris*, *P. coccineus* L., *P. acutifolius* Gray var. *latifolius* Freem e *P. lunatus* var. *lunatus*. As relações entre as quatro espécies cultivadas de *Phaseolus* pode ser representada como se segue (Evans, 1976):

a todas aparentemente derivam de um ancestral comum;

b *P. vulgaris* foi domesticado na América do Sul ou Central ou em ambas as regiões, nas zonas temperadas (de 10.000 a 7.000 a.C.);

- c** *P. acutifolius* foi domesticado na América Central, nas regiões semiáridas;
- d** *P. lunatus* foi domesticado na América do Sul ou na América Central ou em ambas as regiões, e é subtropical (4.500 a.C. na América do Sul e 1.800 a.C. na América Central).
- e** *P. coccineus*, o único cuja reprodução é alógama (polinização cruzada e fecundação entre indivíduos geneticamente diferentes), foi domesticado nas zonas frias e montanhosas dos Andes (2.000 a.C.).

Das quatro espécies cultivadas, *Phaseolus vulgaris* (o feijão comum), é a mais importante para o consumo humano direto. A diferenciação entre as quatro espécies cultivadas do gênero *Phaseolus* pode ser feita facilmente, mas a distinção entre os tipos selvagens é mais difícil. O hábito de crescimento é uma característica morfológica importante, que tem uma influência direta sobre o manejo da cultura do feijão, podendo ser separado em determinado ou indeterminado. O crescimento determinado é comum às espécies cultivadas do gênero *Phaseolus* e se caracteriza pelo desenvolvimento completo do meristema terminal em uma inflorescência, caráter este controlado por um gene recessivo.

No gênero *Phaseolus* há tanto formas anuais como perenes. As formas anuais são comuns em *P. vulgaris* e *P. acutifolius*. Em condições de campo, o seu ciclo de crescimento termina com a senescência foliar e com a maturação das vagens. As formas perenes são mais comuns em *P. lunatus* e *P. coccineus*. O florescimento, o rendimento e a maturação das vagens é um processo contínuo e relativamente curto.

Embora o feijoeiro comum seja predominantemente autógamo, devido a sua morfologia floral, várias espécies de abelhas podem potencialmente transportar o pólen e fertilizar plantas a uma curta distância da fonte de pólen. No entanto, a participação efetiva de abelhas e outros insetos polinizadores em plantios comerciais parece ser mínima.

iii A infecção pelo BGMV

O mosaico dourado é causado pelo BGMV, que é transmitido pela “mosca branca” (*Bemisia tabaci*), presente em todas as regiões das Américas onde o feijão é cultivado. Quando o vírus ataca a planta, as perdas estimadas na produção de grãos podem variar de 40% a 100%, dependendo da incidência, da fase de crescimento da planta e da cultivar. A busca por cultivares resistentes ao mosaico dourado foi iniciada no início dos anos 70, mas apenas baixos níveis de tolerância foram encontrados. Não há no Brasil nem em outros países uma variedade com um nível adequado de resistência ao mosaico dourado; tampouco se observou imunidade à doença dentro do gênero *Phaseolus*. Há tolerância em cultivares de origem mesoamericana, especialmente contra o vírus do mosaico amarelo dourado (BGMV), mas não imunidade. Como consequência da ausência de um alto nível de resistência genética, o controle do mosaico dourado depende de práticas culturais para o manejo da doença, essencialmente através do controle químico do vetor (mosca branca). Há vários princípios ativos eficientes para o controle de adultos da mosca branca das raças A e B, mas uma perda de eficiência tem sido observada como resultado da utilização continuada de inseticidas. Além do mais, o inseticida atua de forma eficaz em controlar adultos de mosca branca, mas não pode evitar a transmissão de vírus. Naturalmente, a aplicação contínua de inseticidas eleva os custos de produção.

5.3.1.c O meio receptor- as principais regiões produtoras e os organismos impactados

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de feijão. A produção de grãos em 2010 foi de 3,16 milhões de toneladas (FAO, 2012). O cultivo dessa leguminosa é realizado em três diferentes estações do ano, em uma área de aproximadamente 3,42 milhões de hectares (IBGE, 2010).

Em 2003-2005, os cinco principais estados produtores foram Paraná, Minas Gerais, Bahia, São Paulo e Goiás, que juntos representaram 67,4% da produção nacional (Figura 12). Contudo, há plantio comercial de feijão mesmo em áreas distantes dos principais centros de consumo.

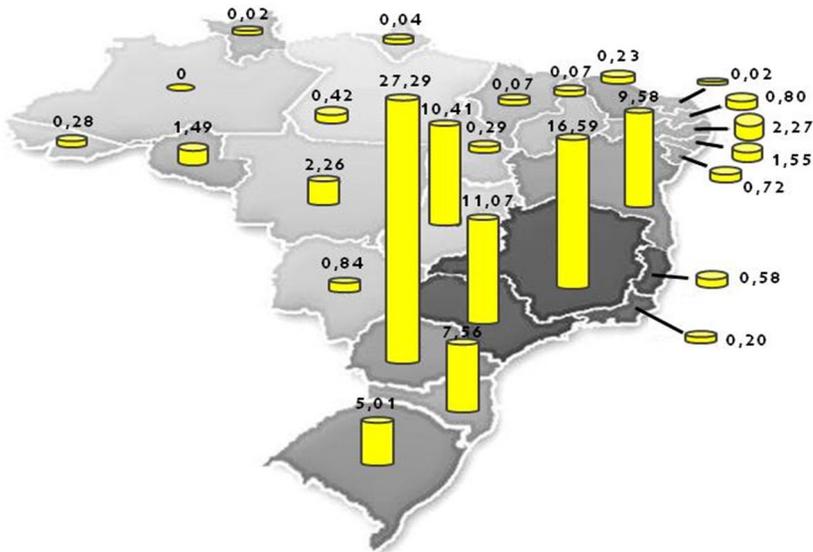


Figura 12: Representação da porcentagem de produção de feijão entre os estados brasileiros no triênio 2003-2005. A altura das barras verticais é proporcional à porcentagem de feijão produzido em cada estado, para o total do país. Adaptado do Comunicado Técnico 187, Figura 5, <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/857164/1/comt187.pdf>

Durante os últimos 20 anos, a cultura do feijão no Brasil passou por enormes mudanças, especialmente no aumento da produtividade, mais acentuado na terceira safra anual, e na concentração da produção nas regiões mais propícias à cultura. A dinâmica dos acontecimentos culminou em um processo de polarização da produção de feijão em três regiões: (a) sul do Paraná e de São Paulo, (b) em todo o Distrito Federal, e (c) na Bahia.

A maior produção nos últimos anos, no entanto, não foi suficiente para atender o abastecimento interno. Entre 1998 e 2008 as importações chegaram a cerca de 100.000 toneladas por ano, e seu percentual de participação na oferta nacional manteve-se estável. Os dados oficiais mostram um aumento do consumo interno, acompanhado pelo aumento da produção (CONAB, 2012).

Como observado na seção anterior (Biologia do feijoeiro), no Brasil não existem espécies nativas que possam cruzar com o feijão; além disso, o país não é o centro de origem ou centro secundário de diversidade de *Phaseolus* (Debouck, 1988). Insetos benéficos, especialmente predadores, têm importância na cultura do feijão no Brasil, embora o manejo integrado de pragas seja ainda incipiente entre os produtores.

5.3.1.d A construção genética e as alterações fenotípicas e fenológicas observadas

O evento Embrapa 5.1 foi obtido pela inserção do transgene no genoma nuclear utilizando o método biobalístico, como descrito por Aragão et al. (1996). Para promover a resistência ao vírus, foi inserido o gene quimérico para a expressão de um RNA que contém um par de fragmentos do gene *rep* (AC1) do BGMV colocados *sense* e *antisense* e intercalados por um íntron (Figura 13). Esta construção foi concebida de modo a gerar um transcrito com sequência de RNA de cadeia dupla (*double stranded* ou dsRNA) ou grampo de RNA, reconhecido por um complexo molecular da célula, o qual gera fragmentos de RNA (*small interfering* ou siRNA), que interferem com a expressão do gene *rep* (Tabela 5). Devido à supressão da expressão do gene *rep*, a replicação viral é comprometida e as plantas tornam-se resistentes ao BGMV. O cassete de expressão do grampo de RNA ('hp' = dsRNA hairpin) será chamado aqui de Δ AC1hpRNA.

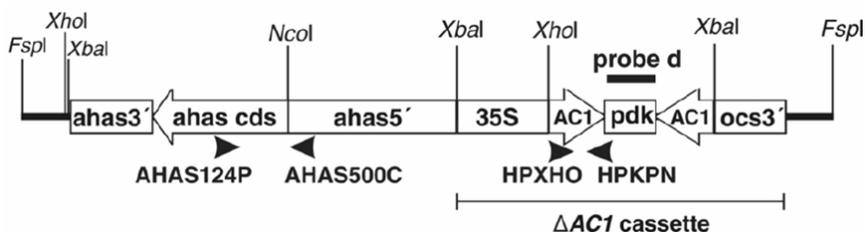


Figura 13. Mapa esquemático do inserto pBGMVRNAiAHAS que contém os elementos genéticos descritos na Tabela 5. As flechas sólidas indicam os *primers* de PCR usados no monitoramento das plantas. [Fonte: Bonfim et al. (2007)].

Os estudos genéticos e moleculares mostraram que os transgenes foram inseridos em um locus único no genoma nuclear e permaneceram estáveis por

várias gerações de autofecundação, cruzamentos e retrocruzamentos com variedades comerciais não GM. O evento não dispõe de sequências funcionais do genes *bla* de *E. coli*, que codifica uma beta-lactamase (que confere resistência a antibióticos beta-lactâmicos tais como ampicilina, sendo usado como um marcador de seleção bacteriano nas etapas de construção do vetor). Este resultado era o esperado, uma vez que o vetor pBGMVRNAiAHAS utilizado na transformação dos grãos foi digerido com a enzima de restrição *FspI*. Como o sítio de restrição que esta enzima corta ocorre duas vezes dentro do vetor, sendo uma vez dentro da sequência gene *bla*, a digestão do vetor resulta na inativação do gene marcador.

ELEMENTO GENETICO*	FUNÇÃO
P- ahas3'	Promotor e sequência líder do gene <i>ahas</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> (<i>AtAhas</i>)
CS - ahas-cds	Sequência codificante do produto AHAS (aceto-hidroxiácido sintase) de <i>A. thaliana</i> , que confere resistência ao herbicida imazapyr
T- ahas5'	Região de terminação do gene <i>Atahas</i>
P-35S	Promotor 35S do vírus do mosaico da couve flor (CaMV)
AC1 (fragmento interno)	Fragmento do gene viral <i>AC1 (rep)</i> do mosaico dourado do feijão comum (BGMV) envolvido na replicação do vírus
I – <i>pdk</i>	Íntron do gene <i>pdk</i> de <i>Flaveria trinervia</i>
<i>ocs3'</i>	Região terminal do gene da octopina sintase de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>
<i>DAC1</i>	Bloco de genes dentro do inserto transferido ao genoma do feijão Embrapa 5.1, que inclui duas cópias da sequência de interferência de 424 pb do gene AC1 de BGMV e as sequências <i>35S</i> , <i>pdk</i> e <i>ocs3</i>
P – Promotor; I – Intron; CS – Coding Sequence (sequência codificante); T – sequência 3' não traduzida com sinais para terminação de transcrição e poliadenilação; *cf. Fig 13	

Tabela 5. Resumo dos elementos genéticos do evento Embrapa 5.1

Para a seleção das plântulas originadas das células apicais transformadas de embriões zigóticos do feijão foi inserido o gene *AtAhas* de *Arabidopsis thaliana* (também chamado *csr1.2*; *AtAhas* será a denominação adotada aqui), juntamente com o seu próprio promotor e a região 3' não traduzida (3'UTR) nativa. O gene *AtAhas* codifica a subunidade maior da enzima aceto-hidroxiácido sintase (AHAS), também chamada acetolactato sintase, que confere tolerância a herbicidas do grupo químico das imidazolinonas. Embora o even-

Figura 14 - Análise de Northern blot para detecção de siRNA isolados de plantas do evento Embrapa 5.1. As plantas foram mantidas em contato com moscas brancas virulíferas por um período de 6 dias e então removidas. O RNA total foi isolado das folhas 6 e 12 dias após a inoculação (dai) de plantas inoculadas (i) e não inoculadas (ni) com o BGMV. As membranas foram hibridizadas com sondas correspondentes a fragmentos dos genes virais AC1 (sonda a), AC2 (sonda b) e AC3 (sonda c). Os géis estão mostrados respectivamente em A, B e C. As sondas estão mostradas em E (representação esquemática do componente A do BGMV). C+: 50 ng de oligos contendo sequências dos genes AC1 (em A), AC2 (em B) e AC3 (em C) do BGMV. Géis mostrando os RNA totais corados com brometo de etídio estão mostrados abaixo de cada membrana. Todas as plantas geneticamente modificadas evento Embrapa 5.1 se mantiveram livres de sintomas enquanto que as plantas não geneticamente modificadas que foram inoculadas apresentaram sintomas severos. D mostra uma análise semi-quantitativa por PCR do DNA viral presente nas amostras. O gene Pv18SrRNA foi usado como controle interno. [Modificado de: Bonfim et al. (2007)].

A caracterização agrônômica do evento Embrapa 5,1 cultivado em três regiões no Brasil por um período de dois anos, não evidenciou qualquer alteração fenotípica do feijão Embrapa 5.1, quando comparado com o seu cultivar parental «Olathe». Tampouco foram observadas diferenças na germinação das sementes, submetidas ou não a um processo de armazenamento. Quando as plantas de feijão GM e não GM foram cultivadas em solos de baixa fertilidade ou alta, não houve diferenças significativas nos parâmetros agrônômicos, mostrando que sob estas condições, não houve alteração na absorção de nutrientes.

A estabilidade do inserto foi investigada e confirmada por análise (Southern blot) do DNA genômico para detectar o módulo $\Delta AC1$ em plantas em múltiplas gerações. O padrão de herança do caráter introduzido foi determinado como mendeliano, a partir de observações em duas gerações de linhagens heterozigotas (R2) e homozigotas (R2H) (Bonfim et al., 2007).

5.3.1.e Histórico de uso seguro do evento

Esta é a primeira vez que se solicita a uma entidade reguladora a liberação comercial de um evento de feijão GM resistente a vírus. Portanto, estritamente falando, não há história de uso seguro do produto. No entanto, outras plantas transgênicas resistentes a vírus estão no mercado, utilizando, essencialmente, o mesmo mecanismo biológico para indução à resistência. Não houve relatos de impacto ambiental decorrente do uso de tais plantas na agricultura.

5.3.2 Formulação do problema – lista de perigos



Nesta parte da avaliação de risco devem-se estabelecer os perigos (com riscos **hipotéticos**) associados com as metas de proteção identificadas na fase anterior. Para o feijoeiro resistente ao vírus do mosaico dourado, vários perigos podem ser imaginados. Neste passo, não há ainda a necessidade de se estabelecer um mecanismo causal cientificamente provável. A lista a seguir resume alguns eventos que podem levar a danos às metas de proteção, tendo em conta também o ambiente receptor, a biologia e a genética do feijão:

- a** o fluxo de genes para espécies silvestres e subsequente introgressão do transgene em populações silvestres;
- b** o fluxo de genes para espécies e variedades asselvajadas (ou ferais) e subsequente introgressão do transgene em ambiente silvestre;
- c** o fluxo de genes para espécies sexualmente não compatíveis = transferência horizontal de genes;
- d** alterações no comportamento agrônômico do feijoeiro (inclusive invasividade, tendência a tornar-se uma planta daninha, etc.) e seu cruzamento com feijoeiros não GM;
- e** o impacto negativo sobre organismos benéficos ou não alvo. O mecanismo pressupõe a interferência do siRNA presente nas folhas com a expressão de genes (provavelmente ortólogos) em outros organismos que interagem com o feijoeiro, tais como artrópodes e fungos do solo, como micorrizas;
- f** impacto sobre pássaros e mamíferos que atacam o feijoeiro;
- g** interferência do siRNA nos processos específicos de absorção de nutrientes do feijoeiro;
- h** alterações da microbiota do solo;
- i** alterações na sequência do vírus do mosaico dourado, induzidas pelos siRNA ou por recombinação com elementos da construção genética, levando ao surgimento de um “super-vírus”;
- j** alterações da composição mineral e das propriedades físicas do solo.

Embora a determinação dos perigos acima mencionados possa ser muito especulativa, ela deve ser preferencialmente baseada na experiência de liberações comerciais de eventos semelhantes e no conhecimento de seus efeitos sobre o meio ambiente, assim como em dados científicos, sempre que disponíveis.

5.3.3 Caracterização do risco



Grande parte dos dados necessários à avaliação de risco dos perigos listados na seção anterior está disponível em publicações científicas. Quando não há dados suficientes, o proponente do pedido de liberação comercial deve gerá-los, em laboratório ou no campo. Entretanto, não há sentido em exigir estudos complementares para qualquer um dos perigos para os quais não se espera a ocorrência de danos.

Como exemplos de perigos que têm alguma base científica são considerados os itens (e) e (i) da lista acima.

Na cultura do feijão os tripes e os fungos micorrízicos podem ser considerados benéficos. O feijão Embrapa 5.1 não produz novas proteínas (distintas daquelas produzidas por variedades convencionais de feijão) e qualquer dano a organismos não alvo só pode provir dos siRNA gerados pela enzima Dicer. Por sua vez, o mecanismo de interferência de RNA atua apenas em eucariotas. Deve ficar claro neste contexto que as plantas normais produzem uma variedade muito grande de siRNAs e que estes não parecem ter influência sobre os organismos benéficos.

No entanto, uma vez que os pequenos fragmentos de RNA podem atingir as células dos insetos e dos fungos, existe uma possibilidade remota de que estes fragmentos possam suprimir a expressão de um gene utilizando os mecanismos endógenos de interferência de RNA destes organismos. Para que aconteça a interferência, é necessária a complementaridade entre um fragmento de RNA fita dupla gerado no interior das células de feijão (um produto da clivagem de cadeia dupla pela Dicer) e um mRNA endógeno do organismo não alvo. A passagem de um siRNA de um organismo para outro, e, especificamente, de uma célula para outra de organismos diferentes, é muito improvável. A interação entre esses siRNAs e algum mRNA endógeno do organismo não alvo também é muito improvável. Por outro lado, para que

ocorra um dano, é necessário que a supressão da expressão do gene tenha longa duração e leve a importantes alterações fisiológicas numa porção significativa da população de insetos ou fungos na região em que se cultiva o feijão, o que é muito improvável *per se*.

A biologia do vírus, por sua vez, permite especular sobre possíveis mudanças na sequência do genoma viral induzidas pelos siRNA ou por recombinação do seu genoma com elementos da construção genética. Na verdade, por causa do ciclo de replicação do vírus executado no núcleo da célula vegetal, recombinações são possíveis com regiões de elevada homologia com as sequências do vírus. No entanto, somente a parte da construção genética que determina a produção de ARN de cadeia dupla possui homologia com o vírus, e a eventual troca da sequência original do vírus por aquela integrante do inserto será quase certamente prejudicial para o vírus, com probabilidade muito baixa de lhe conferir qualquer vantagem competitiva.

Riscos associados aos demais perigos mencionados na secção anterior podem ser descartados com base na biologia do feijão, nos dados agrônômicos e de desempenho, no conhecimento anterior de fluxo de genes e na ausência de qualquer nova proteína determinada pela transformação da planta.

Uma vez feito isso, a estimação do risco pode começar.

5.3.4 Estimação do risco



Com base na curta lista de perigos selecionados na etapa anterior, procede-se ao estudo do binômio probabilidade de exposição / efeitos da exposição (Figura 4) para estimar os riscos, no ambiente receptor definido anteriormente. As considerações abaixo são parte da rota ao dano mostrada na Figura 3 do primeiro capítulo deste guia.

Para o primeiro caso analisado (danos aos organismos não alvo), a probabilidade de que siRNA ativos originados da construção atinjam o interior das células de fungo ou tripes ou outros organismos benéficos é muito remota. Por outro lado, não é possível prever que danos poderiam ocorrer no caso de um siRNA gerado pela construção chegar a interferir com o metabolismo do organismo não alvo, mas é certo que o impacto negativo seria restrito aos organismos presentes em plantações de feijão, sem amplificação do impacto para outras populações. O dano esperado em qualquer

população de organismos benéficos é, portanto, muito baixo, sem qualquer impacto real negativo na biodiversidade.

Para o segundo caso (alterações na sequência de DNA viral), a probabilidade de recombinação entre as sequências adicionadas ao cromossoma da célula vegetal e o DNA viral é muito baixa. Além disso, não existem vantagens para o vírus na troca da sequência do gene *rep* do vírus original por outra contra a qual o mecanismo de interferência de RNA no feijoeiro GM é dirigido. Pode-se concluir assim que os danos resultantes desta mudança serão marginais.

A aplicação do algoritmo da Figura 4 indica, como mostrado na Fig. 15 a seguir, que os riscos são insignificantes.

		ESTIMATIVA DO RISCO			
		BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
PROBABILIDADE	MUITO ALTA	BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
	ALTA	BAIXO	BAIXO	MODERADO	ALTO
	BAIXA	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO	MODERADO
	MUITO BAIXA	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIÁRIA	GRANDE
		CONSEQUÊNCIA			

Figura 15. Estimativa dos riscos associados aos perigos (e) e (i) do item 5.3.3. Para o perigo (e), uma vez que é muito baixa a probabilidade de que os siRNAs da construção genética do feijão atinjam o citoplasma das células de organismos benéficos, assim como é reduzida a probabilidade de dano a estas células, é possível concluir com segurança que a probabilidade de haver danos aos organismos não alvo é muito baixa. Além disso, o dano será restrito a alguns indivíduos, sem impacto significativo para equilíbrio das populações de organismos não alvo ou danos à biodiversidade. Além disso, como comentado no texto acima, a probabilidade de ocorrência de recombinações genéticas entre a construção e o vírus é baixa e o dano previsto é marginal, logo o risco para o perigo (i) é também insignificante.

5.3.5 A tomada de decisão



Após estimar os riscos para os perigos individuais identificados na caracterização do risco, o avaliador de risco pode concluir sobre a segurança ambiental do feijão Embrapa 5.1. Em geral, os vários riscos não são adicionados, mas devem ser tomadas em conjunto pelo avaliador na sua decisão final.

5.4 Soja GTS 40-3-2 tolerante ao herbicida glifosato

A soja tolerante ao herbicida glifosato, evento GTS 40-3-2, foi liberada comercialmente na Argentina em 1996. O primeiro ensaio em contenção (liberação planejada) foi realizado em 1991. O evento GTS 40-3-2, comercialmente conhecido como soja RR, foi desenvolvido pela Monsanto empregando transformação por bombardeamento de micropartículas (biobalística) com o objetivo de introduzir o gene cp4-epsps, que confere às plantas transformadas tolerância ao herbicida glifosato.

5.4.1 Formulação do problema - o contexto da soja RR



Os elementos principais são o marco legal, a biologia das plantas, a construção genética (especialmente no que diz respeito à produção de novas proteínas e à geração de novos fenótipos), as principais regiões produtoras (isto é, o meio receptor) e os organismos impactos. Em alguns casos já há uma familiaridade sobre o fenótipo estudado ou uma história de uso seguro do transgênico.

5.4.1.a O marco legal

Desde 1991, a Argentina regulamenta as atividades relacionadas aos organismos geneticamente modificados (OGM) para uso agrícola. Para tal foi criado o Comitê Consultivo Nacional de Biotecnologia Agrícola (CONABIA) como instância de avaliação e consulta no âmbito da Secretaria de Agricultura, Pecuária e Pesca (SAGyP). Inicialmente, a CONABIA era responsável por todo o processo de regulamentação e avaliação, com o apoio administrativo de uma área da SAGyP denominada Coordenação Técnica da CONABIA, mais tarde denominada Escritório de Biotecnologia. Atualmente, a Diretoria de Biotecnologia é responsável pelo acompanhamento e pré-avaliação das solicitações apresentadas para atividades com organismos vegetais geneticamente modificados.

Tanto a CONABIA como a Diretoria de Biotecnologia visam garantir a biossegurança do agroecossistema. Para alcançar seu objetivo, analisam e avaliam as solicitações apresentadas para as atividades com OGM. Com base na informação científica e técnica e em dados quantitativos sobre a questão de biossegurança de OGM, emitem conjuntamente um parecer não vinculante, que é apresentado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Pesca, a autoridade executiva, autorizando ou não realização das atividades solicitadas.

A CONABIA é composta por representantes do setor público e privado envolvidos em biotecnologia agrícola. É interdisciplinar e interinstitucional e sua Secretaria Executiva é exercida pelo Departamento de Biotecnologia no âmbito da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Pesca. Os especialistas do setor analisam em profundidade as pré-avaliações das solicitações. É também tarefa da CONABIA a aplicação de critérios científicos e técnicos e o respeito aos princípios que regem o marco legal. Como dito anteriormente, o objetivo desta avaliação é garantir a biossegurança do agroecossistema. Assim, a análise das características do OGM em questão é complementada com a do objetivo da atividade solicitada, como, onde e quando ela será realizada e a idoneidade do requerente.

A apreciação das solicitações é feita caso a caso, com base em critérios técnicos e científicos. O objetivo desta avaliação é saber se o desempenho agrônômico do OGM é semelhante ao do organismo não modificado (contrapartida convencional) sob as mesmas condições e, havendo diferenças, quais os riscos a elas associados. Para plantas geneticamente modificadas são analisados: a) a segurança para o agroecossistema, b) a aptidão alimentária para o consumo humano e animal e c) os impactos comerciais e na produção consequentes à liberação comercial (em grande escala). A avaliação de um OGM, desde seu desenvolvimento até sua eventual comercialização, toma vários anos. Para mais detalhes do circuito de autorização de comercialização, consulte-se a Resolução MAGyP n° 763/11 e a Resolução SAGyP 510/11 (<http://www.pregonagropecuario.com.ar/html.php?txt=2621>).

Após a avaliação, um parecer sobre os impactos na produção e no comércio, devidos à liberação comercial do OGM, deve ser alcançado, sendo responsável a Diretoria de Mercados Agrícolas, órgão do Ministério da Agricultura, Pecuária e Pesca, de acordo com a Resolução SAGyP n° 510/11. É importante ressaltar que cada uma destas avaliações é completamente independente das demais e que cada um dos organismos que faz a avaliação emite um parecer não vinculante, encaminhado à Secretaria de Agricultura, Pecuária e Pesca, a autoridade executiva, ou seja, aquela que concede ou não a permissão para o desenvolvimento e a comercialização de OGM na Argentina.

Além disso, com base nas leis e na Constituição do país, podem-se estabelecer metas específicas, tais como a proteção de espécies ameaçadas e icônicas, a preservação ou a melhoria da qualidade da água e do solo,

a proteção a espécies benéficas para a agricultura e a defesa dos recursos genéticos do país (por exemplo, as variedades locais ou crioulas).

5.4.1.b A biologia da soja

A soja é uma planta herbácea anual, cultivada no período primavera-verão, cujo ciclo vegetativo é de 3 a 7 meses. As folhas, caules e vagens são pubescentes, a coloração variando entre o amarelo, o castanho e o cinza. O talo é firme e ereto e atinge alturas variando de 0,4 a 1,5 metros, dependendo da variedade e das condições de cultivo. São frequentemente ramificados, com tendência ao acamamento, embora existam variedades resistentes. O sistema radicular é forte, podendo chegar a raiz até um metro de profundidade, mas geralmente não atingindo mais que 40-50 cm. Na raiz principal ou nas secundárias encontram-se nódulos em números variáveis. As folhas são compostas, alternadas, com exceção da linha de base, onde são simples. São trifolioladas, com folíolos oval-lanceolados. Exibe um verde característico que fica amarelo na maturidade, com as plantas sem folhas.

Suas flores são completas, axilares, com inflorescências racemosas de número variado, de forma obovada a suborbicular, brancas ou roxas, dependendo da variedade. Em consonância com este tipo de flor, a soja é predominantemente autógama. A janela de floração é muito ampla, variando de acordo com os cultivares que se cultivam. A distância de cruzamento em geral estende-se até 2 m. As sementes de soja em geral não apresentam níveis significativos de dormência.

O fruto é uma vagem deiscente por ambas as suturas, com comprimento da bainha de três a sete centímetros. Cada cápsula contém em média 3 a 4 sementes, geralmente esféricas. Algumas variedades de semente apresentam uma mancha negra correspondente ao hilo da semente. O peso médio de 100 sementes varia de 5-40 gramas, e mesmo em variedades comerciais a faixa vai de 10 a 20 gramas. A semente é rica em proteínas e óleos. Algumas variedades melhoradas têm cerca de 40-42% de proteína e 20-22% de óleo em relação ao seu peso seco. A proteína de soja apresenta um bom equilíbrio de aminoácidos essenciais, com destaque para a lisina e a leucina.

5.4.1.c O ambiente receptor - as principais regiões produtoras e os organismos impactados

Na Argentina, o cultivo de soja ocupa uma grande zona agroecológica, variando de 23 ° a 39 ° de latitude sul, com maior concentração nos Pampas. Esta grande zona de produção é dividida em três áreas, em função do período livre de geadas.

- Região Norte (ao norte do paralelo 30 ° S). Esta região permite o maior número possível de meses para o plantio das cultivares de soja GM IV a IX.
- Pampas Norte (entre os paralelos 30 ° e 36 ° S). Nesta área são plantadas as cultivares transgênicas III a VIII. Esta é a principal área produtora de soja na Argentina, onde a leguminosa encontra condições ideais para a produção.
- Pampas Sul (sul do paralelo 36 ° S). É a região de maior limitação quanto à combinação GM X data de plantio, sendo empregado as cultivares GM II a IV.

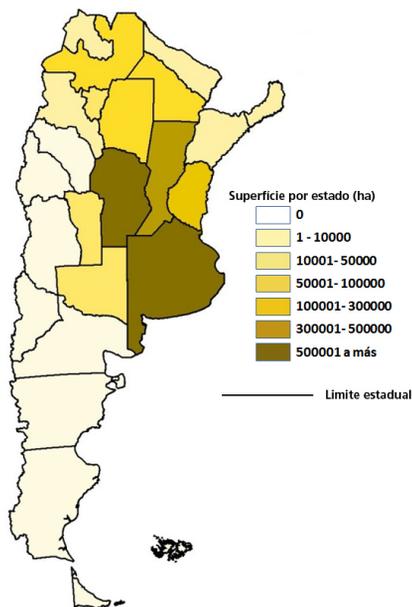


Figura 16: Principais áreas de produção de soja na Argentina.

De acordo com o Ministério da Agricultura, os principais estados produtores em 2007 foram Córdoba, com 36%, Santa Fé, com 26% e Buenos Aires, com 21%.

A soja cruza somente com outras plantas do gênero *Glycine* subgênero *Soja*, entre os quais *G. soja* Sieb. e Zucc. e *G. gracilis* Skvortz, todas espécies originárias da Ásia (norte e centro da China, Coreia, Japão, Taiwan e ex-URSS) e Austrália, e não presentes na Argentina.

5.4.1.d A construção genética

A modificação genética consistiu na introdução do gene que codifica a enzima 3-enolpiruvil-shiquimato-5-fosfato sintase (EPSPS) no genoma da soja, mediante a transformação do tecido vegetal utilizando o método de bombardeamento com micropartículas revestidas com DNA (biobalística). Embora o vetor (plasmídeo PV-GMGT04, Figura 17) utilizado nesta transformação contenha vários genes além do *epsps*, apenas este (em conjunto com os elementos genéticos que regulam o trânsito ao cloroplasto e a expressão na planta) foi introduzida no OGM.

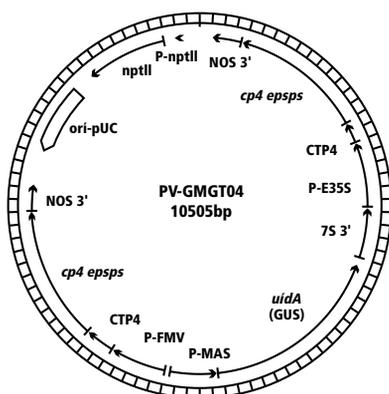


Figura 17: PV-GMGT04. Vetor utilizado para a transformação da soja tolerante ao glifosato, que contém o gene para a enzima 3-enolpiruvil-shiquimato-5-fosfato sintase (EPSPS), com as suas sequências reguladoras para a expressão em plantas de soja. O plasmídeo contém outros genes que não foram integrados ao genoma da planta (p. ex., gene *nptII* e respectivas sequências para sua expressão), necessários ao processo de clonagem e transformação da planta de soja.

Os outros elementos genéticos introduzidos no evento de soja 40-3-2 são: i) o promotor 35S do vírus do mosaico da couve-flor, contendo ainda uma duplicação em tandem da região promotora, ii) a sequência que codifica o peptídeo que dirige a enzima para o cloroplasto (CTP), proveniente do gene *epsps* e iii) as sequência de terminação e de poliadenilação do gene que codifica a enzima nopalina sintase de plasmídeo pTiT37, derivado de *Agrobacterium tumefaciens*.

5.4.1.e Histórico de uso seguro do evento

A soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato é cultivada em muitos outros países, além da Argentina. Para avaliar o efeito desta soja sobre o agroecossistema é muito importante ter informações sobre quais outros países a cultivam, a partir de quando e se houve algum efeito deletério sobre o agroecossistema. Esta informação é trazida pela história de uso seguro. No caso da soja, a autorização para o cultivo na Arnetina e em vários outros países remonta à década de 90. De fato, muitos países permitem o cultivo do evento GTS 40-3-2, enquanto outros só autorizam o uso como alimento (Tabela 6). Em todos estes países uma avaliação de risco equivalente à feita na Argentina foi necessária e suficiente para uma decisão final da autoridade nacional.

País	Plantio	Alimento humano ou para animais	Alimento humano	Alimento para animais
África do Sul		2001		
Argentina	1996	1996		
Austrália			2000	
Brasil	1998	1998		
Canadá	1995		1996	1995
China		2004		
Colômbia		2005		
Coréia	2000		2000	2004
Estados Unidos	1994	1994		

País	Plantio	Alimento humano ou para animais	Alimento humano	Alimento para animais
Filipinas		2003		
Japão	1996	1996		
México	1998	1998		
Paraguai	2004	2004		
República Checa			2001	2001
Reino Unido		1996		
Rússia			1999	
Suíça		1996		
Taiwan			2002	
União Europeia		2005	2006	2005
Uruguai	1997	1997		

Tabela 6: Países nos quais a soja evento GTS 40-3-2 (soja com tolerância ao herbicida glifosato) foi autorizada comercialmente. Fonte: <http://www.cera-gmc.org>

5.4.2 Formulação do problema – lista de perigos



Como parte do exercício de comparação com as experiências da liberação comercial de outros eventos, pode-se definir uma lista de potenciais perigos que envolvem as metas de proteção e o ambiente receptor, conforme apresentados no item 5.4.1.a, e a biologia da soja. Assim, considerando-se que esta tecnologia é dirigida para obter tolerância a um herbicida, alguns pontos podem ser destacados como sensíveis e, por conseguinte, podem constituir perigos hipotéticos, tais como:

- 1 Fluxo gênico para espécies sexualmente compatíveis;
- 2 Impacto da planta GM sobre animais benéficos, ameaçados ou icônicos;
- 3 Patogenicidade da planta GM;
- 4 Efeito nocivo na alimentação animal ou humana;
- 5 Geração de plantas daninhas resistentes ao herbicida glifosato.

5.4.3 Caracterização do risco



No evento GTS 40-3-2, a produção e a viabilidade do pólen são semelhantes às da soja não transgênica. Na Argentina não há plantas daninhas nem plantas silvestres sexualmente compatíveis que possam dar origem a híbridos viáveis. As distâncias de isolamento necessárias para impedir o cruzamento de outras variedades de soja com o cultivares do evento GTS 40-3-2 são as mesmas requeridas para variedades de soja modificadas por técnicas convencionais.

Em ensaios de liberação planejada com plantas de soja GTS 40-3-2 não foram observados efeitos tóxicos ou alterações dos níveis populacionais de espécies de insetos benéficos, pássaros e outras espécies que frequentam as plantações de soja. O *Agrobacterium tumefaciens* linhagem CP4, organismo doador do gene introduzido no evento 40-3-2, é um organismo omnipresente, o qual é normalmente encontrado no solo (e, presumivelmente, os seus produtos de expressão) e é um componente normal do referido habitat.

A soja não é considerada prejudicial para os seres humanos do ponto de vista alimentar (não tóxica), ou do ponto de vista do produtor (não se comporta como planta daninha). Assim, pode-se afirmar que a soja é uma planta inofensiva e esta característica não é alterada no evento 40-3-2. Ainda que alguns elementos genéticos utilizados no evento 40-3-2 tenham origem em fitopatógenos (vírus do mosaico da couve-flor e de *A. tumefaciens*), eles não podem causar qualquer doença no animal ou vegetal, já que as características que conferem patogenicidade aos organismos doadores não estão presentes no evento 40-3-2; portanto, não há risco de patogenicidade para outros organismos.

Para permitir que a tecnologia incorporada (tolerância ao glifosato) seja durável e não se torne obsoleta rapidamente pelo aparecimento de plantas daninhas resistentes ao herbicida, deve-se associar a adoção deste evento a um programa de manejo de pragas (no caso de plantas daninhas) desenhado para retardar o aparecimento de plantas daninhas resistentes, situação indesejável que poderia tornar obsoleto o controle de plantas daninhas por este herbicida. Neste programa deve ser considerada a opção de rotação de culturas, com emprego de culturas ou cultivares que permitam o emprego de outro herbicida com princípio ativo diferente do glifosato.

5.4.4 Estimação do risco



Com base nos pontos discutidos na seção anterior fica claro que, embora tenham sido mencionados vários perigos (5.4.2), eles foram sendo descartados, um por um, com base na probabilidade de ocorrência de dano associado. Ou seja, não existe uma rota ao dano (Figura 3 da Seção 1 do guia) que possa ser claramente estabelecida para cada perigo hipotético.

Cabe mencionar que um dos perigos reveste-se de maior importância que os demais: o perigo listado no item 5 da lista levanta a possibilidade de aparecimento de resistência em plantas daninhas devido ao uso do herbicida ao qual a soja é tolerante. Não é um risco diretamente associado à transgênese, mas sim à tecnologia de controle de plantas daninhas, o qual deve ser manejado de forma idêntica à empregada para qualquer outra variedade de soja resistente ao mesmo herbicida (“stewardship”). Na verdade, existe uma vasta experiência mundial no uso de medidas para retardar o aparecimento de resistência em plantas daninhas (Wakinson et al., 2000), e as práticas de gestão mostraram-se bastante eficientes em muitos ambientes e circunstâncias ao longo dos anos.

No entanto, é preciso ressaltar que, ao não se utilizar adequadamente a tecnologia (gestão adequado para retardar o aparecimento de resistências), o dano potencial (aparecimento de ervas daninhas que não eram resistentes a este herbicida) é, apesar de tudo, baixo, como nos outros casos. Embora não haja danos ambientais, este risco está associado à adoção da tecnologia e tem componentes de risco econômicos ao tornar ineficaz a tecnologia transgênica.

Com base em tudo o que foi exposto e discutido acima, e empregando o critério estabelecido na Figura 4, que associa o nível de dano a sua probabilidade de ocorrência, chega-se à estimativa de um risco insignificante (ou negligenciável) ou, no máximo, baixo, em um cenário de gestão inadequada (ou seja, o monitoramento ineficaz da tecnologia) de aparecimento de plantas daninhas (Figura 18).

		ESTIMATIVA DO RISCO			
		BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
PROBABILIDADE	MUITO ALTA	BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
	ALTA	BAIXO	BAIXO	MODERADO	ALTO
	BAIXA	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO	MODERADO
	MUITO BAIXA	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO
	MARGINAL	MENOR	INTERMEDIÁRIA	GRANDE	
		CONSEQUÊNCIA			

Figura 18: Risco associado à liberação comercial de soja tolerante a glifosato evento 40-3-2.

5.4.5. A tomada de decisão



Concluimos que, com a adoção de um plano de gestão adequado para prevenir o aparecimento de plantas daninhas resistentes ao glifosato, o risco ambiental inerente à liberação comercial de soja tolerante ao glifosato torna-se reduzido, uma vez que a possibilidade de aparecimento de plantas daninhas resistentes ao herbicida só é significativa num cenário de gestão inadequada da tecnologia.

5.5 Milho MON89034-3 x MON 00603-6 (NK603) resistente a insetos e tolerante ao herbicida glifosato

Os testes de campo para esta planta foram feitos em 2009, em Tamaulipas, México. Um pedido de liberação no ambiente em fase piloto (equivalente à liberação planejada, no Brasil) foi encaminhado à autoridade competente, para 29 áreas no Estado de Tamaulipas, no período entre julho de 2012 e julho de 2013, com uso previsto de 13.975,68 kg de sementes e plantio de 335,53 hectares. As estações de semeadura foram: julho a agosto e janeiro a fevereiro. Os municípios escolhidos foram Reynosa, Rio Bravo, Valle Hermoso e Matamoros. Foram empregadas áreas com contenção de risco.

5.5.1 Formulação do problema - o contexto do milho

MON89034-3 x MON 00603-6



Os elementos principais do contexto são o marco legal, a biologia da planta, a construção genética, assim como outras alterações genéticas feitas no organismo, especialmente no que diz respeito à produção de novas proteínas e à geração de novos fenótipos. Também são importantes as condições de produção (isto é, o meio receptor) e os organismos impactados. Em alguns casos, já há uma familiaridade sobre o fenótipo estudado ou uma história de uso seguro do OGM, que também trazem informações importantes à avaliação de risco.

5.5.1.a O marco legal

No México há uma legislação especial para os organismos geneticamente modificados (OGM), incluindo a Lei de Biossegurança sobre Organismos Geneticamente Modificados, de 18 de março de 2005, seu Regulamento, publicado em 19 de março de 2008, e alguns decretos que alteram, adicionam ou revogam diversos dispositivos do regulamento.

A Lei de Biossegurança de Organismos Geneticamente Modificados (LBOGM) é uma lei geral que designa responsabilidades e aborda as seguintes áreas relacionadas à biossegurança:

- Regulamenta o uso em contenção, liberação experimental, liberação em programa piloto, liberalização comercial, comércio, importação e exportação de organismos geneticamente modificados.
- Estabelece diretrizes e procedimentos gerais.
- Define a informação necessária para as solicitações de liberação no ambiente.
- Determina e define responsabilidades entre as diferentes autoridades do governo federal,
- Estabelece um regime abrangente de delitos e sanções.
- E estabelece um sistema de coordenação da informação e autoridade gestora.

Estão sujeitos a esta lei todos os OGM usados para fins agrícolas, na pecuária, na aquicultura e na silvicultura e ainda para fins industriais, comerciais e de biorremediação. As normas legais relativas aos procedimentos de avaliação aplicam-se principalmente às áreas de saúde (humana, animal, vegetal e aquícola) e meio ambiente. A exceção mais importante estabelecida por esta lei diz respeito aos medicamentos biotecnológicos que, no México, são regulados pela Lei de Saúde e seus regulamentos.

Trata-se de um instrumento jurídico que combina os elementos científicos da avaliação de risco caso a caso e passo a passo, com uma abordagem de precaução muito rigorosa, cujo ponto central é a adoção de medidas para a proteção da saúde e do meio ambiente contra eventuais danos resultantes da utilização e liberação de OGM. Garante o acesso à informação e estabelece os procedimentos administrativos.

Existem dois tipos de instituições encarregadas da biossegurança no México. Por um lado, as autoridades responsáveis pela emissão de licenças e autorizações: os Ministérios da Saúde (MS), o Ministério da Agricultura, Pecuária, Pesca e Alimentos (USDA) e o Departamento de Meio Ambiente e Recursos Naturais (SEMARNAT), que se responsabilizam pelos trâmites administrativos da avaliação de risco dos OGM e têm a atribuição, determinada por leis gerais e regulamentos federais, de garantir o equilíbrio ecológico e a saúde humana, animal e vegetal; e por outro lado, a Comissão Interministerial de Biossegurança e Organismos Geneticamente Modificados (CIBIOGEM), uma comissão interministerial do Poder Executivo Federal, criada por decreto presidencial em novembro de 1999.

A SEMARNAT é responsável por OGM para biorremediação, fauna e recursos florestais e atua como autoridade subsidiária na avaliação do impacto ambiental de produtos que são de responsabilidade do Ministério de Agricultura, já que tem o poder de emitir um parecer vinculante para a eventual liberação de OGM no ambiente.

O SAGARPA é a autoridade competente para avaliar plantas, animais, espécies pesqueiras, organismos aquáticos e microrganismos geneticamente modificados utilizados como insumos agrícolas ou veterinários.

Compete ao Ministério da Saúde a avaliação da segurança de produtos de consumo humano e as ações e medidas de vigilância sanitária e epidemio-

lógica relacionadas com os OGM. A regulamentação mexicana de produtos biotecnológicos para o consumo humano é completa e segue as diretrizes internacionais: avaliação integrada, passo a passo, e caso a caso, orientada pelos resultados comparativos entre o alimento GM e sua contrapartida convencional, de acordo com o conceito de equivalência substancial (CO-FEPRIS, 2005).

As três autoridades competentes formulam e aplicam políticas: recebem, analisam e avaliam as solicitações; publicam resoluções e concedem autorizações e licenças; realizam atividades de monitoramento; suspendem autorizações e licenças; determinam e aplicam medidas de segurança e impõem sanções.

A CIBIOGEM atua como coordenador das políticas da administração pública federal em relação à biossegurança. É a autoridade responsável pela condução de estudos e pela formulação de considerações econômicas quanto às consequências da produção em nível comercial do OGM, criando também os mecanismos necessários ao Acordo Prévio Informado estabelecido no Protocolo de Cartagena. A Comissão representa o México no referido Protocolo e também é responsável pela Câmara Nacional de Biossegurança.

A lei estipula o estabelecimento de regiões de restrição à liberação de OGM de acordo com três critérios:

- Quando a região é centro de origem ou diversidade da espécie em questão.
- Em áreas de agricultura orgânica, a pedido específico das organizações envolvidas¹.
- Áreas Naturais Protegidas - a liberação ambiental de OGM é permitida apenas para biorremediação.

Note-se que o México tem uma lei para a proteção do meio ambiente a partir dos anos 80², que determina áreas protegidas e limita atividades

1 Embora o mecanismo esteja estabelecido no artigo 90 da Lei de Biossegurança de Organismos Geneticamente Modificados, nenhuma comunidade solicitou por escrito à SAGARPA o estabelecimento de qualquer zona livre de transgênicos.

2 A Lei Geral do Equilíbrio Ecológico e da Proteção ao Ambiente.

ecônômicas que possam ameaçar ecossistemas específicos. Além disso, o México foi um dos primeiros signatários do Protocolo de Cartagena, o que obrigou o país a cumprir a exigência de ter um marco legal específico para biossegurança, o qual é consistente com os compromissos internacionais.

Além disso, com base nas leis e na Constituição do país, pode-se estabelecer metas específicas, tais como a proteção de espécies ameaçadas e icônicas, a preservação ou a melhoria da qualidade da água e do solo, a proteção a espécies benéficas para a agricultura e a defesa dos recursos genéticos do país (por exemplo, as variedades locais ou crioulas).

5.5.1.b A biologia do milho

Zea mays (milho) é uma angiosperma monocotiledônea pertencente à família Gramineae (Veja Tabela 7 abaixo). É uma espécie diploide, com $2n = 20$, monóica, com flores unissexuais, estando as flores masculinas e femininas na mesma planta. A inflorescência masculina é terminal, conhecida como pendão. É composta por um eixo central e ramos ou raquis laterais. Ao longo do eixo central distribuem-se pares de espiguetas, de forma polística e em ramos com distribuição dística. Cada espiguetas é protegida por duas brácteas ou glumas, que por sua vez contêm em forma emparelhada as flores estaminadas; em cada flósculo componente do pendão há três estames onde se desenvolvem os grãos de pólen. A coloração do pendão é dependente da cor das glumas e anteras, que podem ser verdes, amarelas, vermelhas ou violeta. As inflorescências femininas (espigas) são derivadas dos botões ou gemas axilares das folhas; são cilíndricas, constituídas por uma ráquis central onde se inserem as espiguetas em pares, cada uma com duas flores pistiladas, uma fértil e a outra abortiva; as flores estão dispostas em filas paralelas, as flores pistiladas têm um único ovário com pedicelo ligado à raquis, um estilo muito longo com propriedades estigmáticas onde germina o pólen. A inflorescência feminina pode formar de 400-1000 grãos, dispostos em média de oito a 24 fileiras por espiga, tudo isso fechado em numerosas brácteas (palha), os longos estilos emergindo da ponta da ráquis como uma massa de fios sedosos conhecidos como a barba ou cabelo do milho. Na espiga, cada grão ou semente é um fruto independente chamado cariopse; a quantidade de grãos produzidos por espiga está limitada pelo número de grãos por fileira e fileiras por espiga.

Como qualquer outro cereal, as estruturas que constituem o grão de milho (pericarpo, endosperma e embrião) dão as propriedades físicas e químicas (textura, cor, tamanho, etc.), importantes na seleção de cereais forrageiros.

Reino	Plantae
Classe	Liliopsida
Subclasse	Commelinidae
Ordem	Poales
Família	Poaceae
Subfamília	Panicoidae
Gênero	<i>Zea</i>
Espécie	<i>Zea mays</i>

Tabela 7: Classificação do milho.

O milho é uma planta anual de porte robusto, atingindo 0,6 a 5 m de altura, com haste simples, ereta e firme, e uma medula esponjosa, de 3 a 4 cm de diâmetro, com poucos perfilhos ou ramos, apresentando nós e entrenós. As folhas, de 0,3 a 1,5 m de comprimento e 5-15 cm de largura, são lineares-lanceoladas, acuminadas, glabras ou pubescentes, com pelos ao longo da margem; nascem em nós alternadamente ao longo da haste, são envoltentes e estão aderidas à haste pela bainha que envolve o entrenó e cobre a gema floral.

O milho é uma planta de polinização cruzada. O pólen é liberado pelo pendão na ponta da planta e é transportado pelo vento para as flores femininas presentes na haste ou colmo. A liberação de pólen pode ocorrer por duas semanas, com um pico nos primeiros cinco dias. Os estigmas são receptivos durante a maior parte das últimas duas semanas. A velocidade e direção do vento afetam a distribuição de pólen.

É uma cultura que se adapta a diferentes condições ecológicas e de solo. É cultivada em latitudes que vão desde a linha do Equador até abaixo dos 50 graus de latitude Sul, em altitudes inferiores a 4.000 metros. É cultivada em regiões úmidas e semiáridas e os ciclos de colheita podem variar de três a doze meses.

Tudo indica que o milho é originário do Continente Americano, particularmente da Mesoamérica³, embora sua domesticação possa ter sido realizada de forma independente em várias partes do continente. Existem várias teorias para explicar a origem biológica do milho. A mais aceita sugere que o milho foi domesticado no México a cerca de 10.000 anos atrás, a partir de uma espécie de teosinto (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) e depois se espalhou para o resto da América (Sánchez, 2011). Evidências arqueológicas em Tamaulipas, Tehuacán e no Vale de Oaxaca revelam o processo de domesticação do milho no México.

Atualmente, a Mesoamérica continua sendo a área de maior diversidade biológica do milho. Na América Central, 78,3% da área é plantada com variedades locais de milho. No México, as raças ocupam 79,7% da área plantada. A adoção de germoplasma de milho melhorado é muito maior no Cone Sul do continente, ocupando 62,9% da terra cultivada e na Zona Andina, chegando a 44,5%. O México ocupa o quinto lugar em área cultivada com materiais melhorados, depois do Haiti (7,3%), Nicarágua (6,9%), Honduras (15,18%) e Guatemala (17,1%). O país latino-americano com a maior área plantada com materiais melhorados é a Argentina (87,3%) (Morris & Lopez Pereira, 1999).

O papel desempenhado pelos agricultores no México e na América Central para a conservação de germoplasma de milho tem sido estratégico. Os pequenos agricultores exploram o potencial genético de suas colheitas em entornos agroecológicos particulares. Neste contexto, a evolução continua, o fluxo genético entre variedades locais e parentes silvestres permanece, e novas variedades adaptadas a ambientes específicos são geradas.

5.5.1.c O meio ambiente e sua influência sobre os organismos autóctones

Pela área cultivada, volume de produção, valor de mercado e mão de obra assalariada envolvida, o milho é a principal espécie agrícola do México.

3 Mesoamérica significa América Média; é uma região cultural e histórica que compreende aproximadamente o sul do México (a partir de uma linha traçada desde o rio Fuerte, descendo para o sul até os vales do Bajío e depois seguindo para o norte até o Rio Panuco), e os territórios da Guatemala, El Salvador, Belize, e as porções ocidentais de Honduras, Nicarágua e Costa Rica. Culturalmente inclui todos os povos e culturas derivadas da cultura olmeca, que formam uma ampla unidade cultural.

Seu cultivo está distribuído por vários contextos geográficos, ecológicos e sociais. Produtores com perfis muito diferentes cultivam milho em terrenos e climas variados, usando diferentes tecnologias. Durante milênios, este cereal tem sido uma pedra angular da agricultura mexicana e continua a ser o principal alimento de grandes setores da população. Há também uma relação cultural muito estreita entre o povo mexicano e este cultivo.

O milho é cultivado em todo o país. A área dedicada a esta planta no México é de longe a maior área dedicada a uma única espécie. Nos últimos cinco anos, em média, 8,3 milhões de hectares foram plantados com milho, representando 38% da área cultivada e 17% do valor produzido na agricultura. A maior área é plantada com milho branco (cerca de 7,5 milhões ha) e apenas cerca de 400.000 ha com milho amarelo. Há ainda uma pequena produção de milho para especialidades culinárias locais.

Em 2007, 2.796.940 agricultores plantaram milho (INEGI, 2007), o que explica a importância social da cultura. No México 83% da produção de milho branco é destinada ao consumo humano. O milho amarelo é usado principalmente na alimentação animal (68% da produção) e para processamento industrial.

A maior parte da safra de milho no México é de sequeiro. Em 2010, apenas 18,5% da produção total de milho foi cultivado sob irrigação, mas a dinâmica da produção nacional depende muito desta última, porque nas áreas irrigadas a maioria dos produtores utiliza tecnologia moderna: variedades melhoradas, tratores, fertilizantes e pesticidas.

As áreas irrigadas contribuem com 50% da produção e têm experimentado um aumento significativo na produtividade, partindo de 3,2 toneladas/ha, em média, no início dos anos 80, para uma média de 7,6 toneladas/ha em 2010, mais do que triplo da produtividade do milho em sequeiro. Em áreas de sequeiro o aumento foi muito modesto, elevando-se de uma média de 1,8 toneladas/ha, na década de 80, para uma média de duas toneladas/ha nos últimos anos.

A produção de milho ocorre em dois ciclos bem definidos: primavera-verão e outono-inverno. No ciclo de primavera, a maior área plantada é dependente das chuvas. O ciclo pode começar em março ou abril, se há

irrigação ou umidade residual. Em condições estritas de sequeiro, o plantio é feito em junho. Neste ciclo são plantados 84% da área dedicada à espécie e colhidos 77% da produção anual (SIAP, <http://www.siap.gob.mx/>). O ciclo outono-inverno geralmente começa em novembro ou dezembro e cerca de 60% da área semeada é irrigada. Em 2010, o rendimento médio do ciclo outono-inverno foi de 5,8 toneladas por hectare em sequeiro e de 8,66 toneladas/ha sob irrigação.

Todos os Estados mexicanos cultivam milho. A maior parte da área plantada está concentrada no centro e no sul do México. Em 2010, os três estados com maior área plantada foram: Chiapas (696 mil ha), Puebla (606 mil ha) e Jalisco (606 mil ha). As principais regiões produtoras são também as áreas central e sul do México. Graças a uma combinação de grandes superfícies e rendimentos mais elevados do que a média nacional, os principais estados produtores são Sinaloa, com 12 milhões de toneladas e Jalisco, com 9,5 milhões de toneladas. Sinaloa tem os mais altos rendimentos médios de milho no país: 9,96 toneladas/ha.

Baja Califórnia é o Estado com o menor número de produtores de milho. Os principais estados produtores de milho amarelo são, em ordem de importância: Chihuahua, Jalisco, Tamaulipas e Chiapas. Os principais estados produtores do ciclo outono-inverno são: Sinaloa, Sonora e Tamaulipas. Tamaulipas é um produtor de milho pipoca e um grande produtor do ciclo outono-inverno, tendo sido plantados 168.000 ha de milho em 2010. O Estado tem uma produtividade intermediária, com cerca de 540 mil toneladas e uma produtividade média de 3,67 toneladas/ha. **Não existem parentes silvestres do milho neste Estado**, nem espécies de teocinte ou plantas do gênero *Tripsacum*.

O México é o país com a maior diversidade genética de milho, sendo cultivadas em seu território 64 raças e várias centenas de variedades (25% das raças nativas americanas de milho) (CONABIO, 2011). A maior diversidade de recursos genéticos vegetais de milho se encontra nas regiões central e sul do México. As variedades locais das áreas de grande diversidade têm muitas vezes baixa produtividade absoluta. A adoção de germoplasma melhorado ainda é baixa no país. Em apenas oito dos 32 Estados cultiva-se uma porcentagem de milho híbrido e variedades de polinização aberta acima de 50%. O germoplasma melhorado cobre apenas 20,3% da área semeada.

O México tem uma situação muito especial, porque é o quarto maior produtor de milho do mundo e é também um dos maiores importadores de grãos. O mercado mexicano de milho está se expandindo. Assim, apesar do aumento constante da produção, o país importa sempre mais grãos. O país é autossuficiente em milho branco, mas é deficiente em milho amarelo, que é utilizado em processos industriais e como forragem. O setor da pecuária tem sido o maior beneficiado pelas importações de milho.

Espécies silvestres sexualmente compatíveis com o milho

O milho é um membro da tribo Maydeae, da família das gramíneas. Os gêneros incluídos na tribo na América são *Zea* e *Tripsacum*. O gênero *Zea* inclui dois subgêneros: *Luxuriantes* e *Zea*. O subgênero *Luxuriantes* inclui:

- *Zea perennis*
- *Zea diploperennis*
- *Zea luxurians*
- *Zea nicaraguensis*

No subgênero *Zea* há uma só espécie, *Zea mays*, com quatro subespécies, que incluem o milho cultivado e os teocintes:

- *Zea mays* ssp. *mexicana* (Schrader) Iltis, 1972 para as raças de teocinte Chalco, Mesa Central e Nobogame;
- *Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley, 1980, que inclui a raça Balsas de teocinte;
- *Zea mays* ssp. *huehuetenangensis* (Iltis & Doebley) Doebley (1990) para a raça Huehuetenango de teocinte;
- *Zea mays* L. ssp. *mays* para o milho cultivado.

Os teocintes, como o milho, têm um número cromossômico $2n=20$. O milho pode produzir híbridos férteis com os teocintes.

As plantas do gênero *Tripsacum* são também parentes silvestres do milho. Elas se adaptam bem a uma grande variedade de solos e climas e têm ge-

nes de resistência ao calor, ao estresse hídrico, a doenças e de resistência a pragas. O gênero inclui 16 espécies. As diferentes espécies de *Tripsacum* exibem números cromossômicos múltiplos de 18, que variam de $2n=36$ até $2n=108$.

As populações de teocinte estão declinando. Com exceção daquelas da bacia do Balsas, incluindo parte dos Estados de Guerrero, Michoacán, Oaxaca, Jalisco e México, o restante das populações praticamente desapareceu (Pacza et al., 2000). Segundo o estudo de Sánchez (2011), a distribuição atual das plantas de teocinte no México é a seguinte:

- *Zea mays* ssp. *mexicana*. Esta subespécie se distribui a altitudes de 1500 a 2800 m sobre o nível do mar na região sul do Estado de Chihuahua (Raça Nabogame), no Estado de Durango (Raça Durango, de acordo com este trabalho), na região conhecida como El Bajío dos Estados de Jalisco (Raça Mesa Central), Guanajuato e Michoacán e no Valle de México, nos Estados do México, Puebla e Tlaxcala (Raça Chalco).
- *Zea mays* ssp. *parviglumis*. (Raça Balsas) se distribui em áreas elevadas de 250 até 1800 m sobre o nível do mar em Sinaloa, Nayarit, Guerrero, Jalisco, Michoacán e Oaxaca, em climas muito diversos.
- *Zea luxurians*. A distribuição desta espécie está restrita ao sudeste da Guatemala e de Honduras. Encontraram-se estas plantas também em Oaxaca.
- *Zea mays* ssp. *huehuetenangensis*. Esta é uma forma de teocinte que se encontra no ocidente da Guatemala, próximo à fronteira com o México, em altitudes de 900 a 1600 m. Existem populações na Serra de Soconusco no Estado de Chiapas.

Há teocintes perenes e anuais, sendo estes últimos mais abundantes. Os teocintes são plantas muito parecidas com o milho. Diferenciam-se entre si pela inflorescência feminina que, no milho, é uma espiga policística (com várias fileiras de grãos) e no teocinte é uma espiga dística (com duas fileiras de grãos), estando as sementes protegidas por um segmento duro da ráquis.

As sementes de teocinte são dispersas como segmentos de ráquis (cápsulas do fruto) devido ao desenvolvimento no teocinte de um tecido de abscisão entre os segmentos. O pendão, ou inflorescência masculina, também se parte pelo desenvolvimento do mesmo tipo de tecido. Esta capacidade de dispersão das sementes foi perdida no processo de domesticação do milho e claramente o distingue do teocinte. Além disso, os teocintes têm um número pequeno de sementes por espiga (5 a 10) e um grande número de espigas agrupadas em um fascículo. Estes ráculos emergem de ramos laterais. Na extremidade de cada ramo se desenvolve um pendão. Num pé de teocinte podem ser encontradas de 500 a 800 sementes em 100 espigas.

5.5.1.d A construção genética, com ênfase nas alterações fenotípicas e na expressão de proteínas

O milho NK603 X MON89034 (Identificador OECD: MON-89034-3 X MON-00603-6) é um híbrido F1 resultante da hibridação da linha MON89034 (MON-89034-3) com NK603 (MON-00603-6). O híbrido com os genes piramidados expressa dois novos grupos de proteínas: duas proteínas inseticidas (Cry1A.105 e Cry2Ab2) e uma outra, CP4 EPSPS. O evento MON 89034 produz as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, derivadas de *Bacillus thuringiensis*, e que são ativas contra lepidópteros praga. A tolerância ao glifosato é conferida pela proteína CP4 EPSPS produzida pelo gene *cp4-epsps* do evento NK603. As novas características de cada linha parental foram combinadas por melhoramento tradicional, que resultou no híbrido.

O evento MON89034 foi obtido por transformação por biobalística empregando uma construção genética de 6702 pb (T-DNA I), excisada do plasmídeo pMON25496 (Figura 19). A construção de DNA consiste em dois cassetes de expressão do transgene. O primeiro cassete contém o promotor e o íntron do gene da actina 1 do arroz, ligados a uma sequência de DNA que codifica um peptídeo de trânsito para o cloroplasto, ao gene para a enzima 5-enol piruvil shiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) de *Agrobacterium tumefaciens* linhagem CP4, que confere tolerância ao glifosato, finalizando com um terminador da transcrição 3' da nopalina sintase. O segundo cassete inclui o promotor 35S do vírus do mosaico da couve-flor (CaMV), que contém uma duplicação em tandem da região promotora, o íntron do gene da Hsp70 de *Zea mays*, o gene *cp4-epsps* e o terminador de transcrição da nopalina sintase.

O evento NK603 foi obtida por transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, utilizando o segmento de T-DNA do plasmídeo pV-ZMIR245 (Figura 19). O cassete de expressão simples contém a extremidade direita do sinal de integração de *A. tumefaciens*, o promotor 35S, a sequência não traduzida CAB do trigo, o íntron do gene da actina do arroz, a sequência codificante da proteína Cry1A.105, a sequência de poliadenilação da Hsp17 do trigo, o promotor FMV, o íntron do gene da HSP70, o segmento codificante para o peptídeo de trânsito para o cloroplasto, derivado da subunidade menor da RuBisCo, a sequência de codificação de Cry2Ab, a extremidade 3' do gene da nopalina sintase de *Agrobacterium tumefaciens*, a sequência sinal de poliadenilação e a borda esquerda da região de integração de *A. tumefaciens*.

As alterações fenotípicas observadas são as seguintes:

- Resistência a lepidópteros, conferida por dois genes: Cry1A e Cry2ab
- Expressão constitutiva dos dois genes em todas as células da planta
- Resistência ao glifosato, conferida por um gene *epsps*

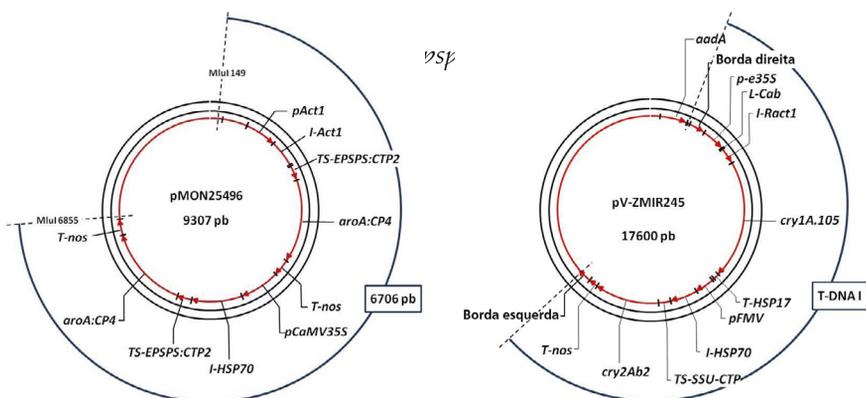


Figura 19. Os plasmídeos pMON25496 (esquerda) e pV-ZMIR245 (direita), dos quais foram obtidas as construções empregadas nas transformações dos parentais do evento piramidado MON89034 X NK603. Um segmento de 6706 pb contendo dois cassetes de expressão de EPSP5 foi excisado de pMON25496, cortando o plasmídeo com a enzima de restrição MluI e purificando o segmento do gel de agarose. A construção foi usada para transformar células de milho por biobalística. O T-DNA do plasmídeo pV-ZMIR245 foi utilizada para transformar células de milho e os eventos com cópia única do inserto foram avaliados na obtenção do evento elite.

5.5.1.e Familiaridade do evento

O piramidado para o qual se solicitou liberação experimental em Tamaulipas já é empregado em outros países onde não há requerimentos adicionais para aprovação comercial de piramidados obtidos de eventos previamente aprovados. O milho MON 89034 X NK 603 foi aprovado para plantio e para alimentação animal ou humana em oito países, além do México. (Tabela 8)

País	Plantio	Alimentação humana ou para animais	Alimentação humana	Alimentação para animais
África do Sul	2010	2010		
Brasil	2010	2010		
Canadá		2009		
Colômbia			2010	
Filipinas	2011		2009	2009
Japão		2008		
México		2010		
Taiwan			2009	
União Europeia		2010		

Tabela 8: Ano de autorização para uso em alimentação humana ou animal do milho MON89034 X NK603, que expressa os genes *cry1A.105*, *cry2Ab* e *epsps*, pela autoridade competente em vários países (adaptado de <http://www.cera-gmc.org>, www.isaaa.org e www.ctmbio.gov.br).

5.5.2 Formulação do problema – lista de perigos



Nesta parte da avaliação de risco devem-se estabelecer os perigos (com riscos hipotéticos) associados com as metas de proteção identificadas na fase anterior (neste caso, elegendo-se os insetos benéficos, a biodiversidade, etc.). Para o caso do milho piramidado MON89034 X NK603, vários perigos podem ser imaginados. Neste passo,

não há ainda a necessidade de se estabelecer um mecanismo causal cientificamente provável. A lista a seguir resume alguns eventos que podem levar a danos às metas de proteção, tendo em conta também o ambiente receptor, a biologia e a genética do milho:

- a** As plantas não apresentam o fenótipo esperado, i.e., não resistem aos lepidópteros alvo (lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*), broca europeia (*Ostrinia nubilalis*), lagarta da espiga (*Helicoverpa zea*); lagarta do colmo do sudoeste (*Diatraea grandiossa*), lagarta rosca (*Agrotis ipsilon*);
- b** A planta apresenta diferentes níveis de tolerância ao herbicida ou resistência a insetos, dependendo do lugar e da safra;
- c** A planta perdeu seu caráter familiar e apresenta alterações anatômicas;
- d** As plantas aumentaram ou diminuíram sua capacidade de propagação no ambiente;
- e** A planta não apresenta equivalência substancial em comparação com a variedade original de milho;
- f** Os grãos ou algum outro tecido da planta transgênica tornaram-se tóxicos para animais silvestres ou de produção;
- g** Os grãos ou algum outro tecido da planta transgênica podem ter efeitos deletérios se forem consumidos pela população humana;
- h** As substâncias novas produzidas pela planta transgênica não são facilmente biodegradáveis e podem se acumular no ambiente;
- i** A característica introduzida confere às plantas vantagens competitivas que poderiam favorecer uma dispersão descontrolada no ambiente;
- j** A eventual transmissão dos transgenes a variedades de milho crioulo de agricultores locais poderia conferir vantagens competitivas a elas e favoreceriam sua dispersão descontrolada no ambiente;
- k** A eventual transmissão dos transgenes a variedades de milho crioulo de agricultores locais poderia diminuir sua adaptação ecológica e comprometer sua permanência no agroecossistema;
- l** A eventual transmissão da característica introduzida a plantas silvestres sexualmente compatíveis poderia conferir vantagens competitivas a elas, favorecendo uma dispersão descontrolada no ambiente;
- m** A eventual transmissão da característica introduzida a plantas silvestres sexualmente compatíveis poderia diminuir sua adaptação ecológica e comprometer sua permanência nos ecossistemas naturais;
- n** As proteínas inseticidas presentes nas plantas transgênicas têm um espectro de ação muito amplo e podem diminuir as populações de insetos benéficos;

- A eventual transmissão dos genes inseticidas a populações de plantas silvestres sexualmente compatíveis pode diminuir e por em risco as populações de insetos benéficos;
- P A eventual transmissão a plantas silvestres sexualmente compatíveis do gene de tolerância ao glifosato pode lhes conferir vantagens competitivas, tornando-as plantas daninhas nos agroecossistemas;
- Q A disseminação em larga escala de plantas transgênicas que produzem proteínas inseticidas pode levar ao surgimento de resistência aos insetos alvo;
- R A disseminação em larga escala de plantas transgênicas tolerantes ao glifosato pode levar ao surgimento de plantas daninhas resistentes a este herbicida.

Embora a determinação dos perigos acima mencionados possa ser muito especulativa, ela deve ser preferencialmente baseada na experiência de liberações comerciais de eventos semelhantes e no conhecimento de seus efeitos sobre o meio ambiente, assim como em dados científicos, sempre que disponíveis.

5.5.3 Caracterização do risco



O milho geneticamente modificado MON89034-3 x MON-00603-6 foi aprovado para o consumo humano no México e em outros oito países, portanto, tem sido considerado tão seguro quanto seu parental não transgênico para a saúde humana e animal, e pode ser utilizado sem riscos adicionais como alimento ou forragem. Estes dados indicam que os danos associados com os perigos (e), (f) e (g) da seção anterior estão efetivamente excluídos.

Experimentos a campo (liberações planejadas) deste milho foram conduzidos no mesmo local para o qual se solicitou autorização de liberação em escala piloto. Esta variedade vegetal já teve oportunidade de provar que é semelhante à planta original, que as suas características morfológicas e capacidade de reprodução não sofreram alteração, e que apresenta a resistência a insetos e a tolerância a herbicida esperadas. Estes resultados confirmam a avaliação agrônômica conduzida em vários países, no sentido de que as probabilidades de dano associadas aos perigos (a), (b), (c) e (d) são também marginais.

Quanto à possível transferência de transgenes para variedades de milho dos agricultores locais, se as medidas necessárias são estabelecidas, é possível

evitá-la. No caso fortuito que o fluxo gênico ocorra, as novas características não confeririam às plantas maior competitividade ambiental. Se alguma vantagem for porventura dada pelo gene, este só poderia se estabelecer (sofrer introgressão) na população se a vantagem for útil ao agricultor. A coexistência de milho não é um assunto de biossegurança, mas uma exigência do mercado; de qualquer forma, tomando-se medidas adequadas, a probabilidade de dano a outras variedades devido ao fluxo gênico (itens j e k) será muito baixa e a coexistência será possível.

Além disso, a transmissão de genes a partir de variedades geneticamente modificadas locais e comerciais dos agricultores não constitui um risco em si mesmo. O risco é que a nova funcionalidade introduzida possa aumentar ou diminuir a capacidade ecológica (“fitness”) da planta receptora no ambiente (Dale & Irwin, 1995). No caso de transmissão acidental do gene, os novos recursos (resistência a insetos e tolerância ao glifosato) não confeririam às plantas qualquer competitividade no meio ambiente e só poderiam estabelecer-se em populações locais se forem úteis ao agricultor. Muitos estudos têm demonstrado isso (Sasson, 2006).

Um exemplo interessante é o estudo de conservação *in situ* de milho conduzido em Oaxaca, México, pelo Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT), do Instituto Nacional de Pesquisa Agropecuária (INIFAP) do México e do Instituto Francês de Pesquisa para o Desenvolvimento (IRD). Os resultados mostram que a conservação de variedades dos agricultores não é baseada no isolamento, mas em uma troca dinâmica de material genético entre diferentes populações de uma mesma região, promovidas por agricultores locais.

Então, tendo em conta a implementação de medidas adequadas de contenção e a probabilidade muito baixa de ocorrência de dano ao agroecossistema devido a um eventual fluxo dos transgenes para variedades locais (itens j e k), o risco associado é insignificante.

As três proteínas expressas são facilmente biodegradáveis, não se acumulam no meio ambiente mais do que as outras proteínas e, por conseguinte, os danos associados ao perigo (h) são marginais. Além disso, a rotação regular de culturas, que é a regra no agronegócio, faz com que a probabilidade de acumulação seja baixa ou muito baixa.

Sobre os perigos associados ao fluxo de genes para parentes silvestres de milho (itens l e m), é preciso esclarecer que Tamaulipas se encontra fora da região mesoamericana, não faz parte da zona de alta diversidade de milho e tem uma alta porcentagem de adoção de variedades melhoradas e híbridas. É um grande produtor do ciclo outono-inverno, sendo responsável por um quinto da produção nacional de milho amarelo. Na região não existem parentes silvestres do milho e, portanto, os riscos associados com os pressupostos (l, m) são insignificantes.

Às plantas de milho, que retêm o grão na espiga, apresentam requerimentos de água e nutrientes muito altos e dependem inteiramente do agricultor para a propagação, seria praticamente impossível tornar-se invasoras em ambientes naturais. Portanto, a probabilidade de danos associados com um aumento (não observado) de invasividade é muito baixa (ponto i).

A resistência ao glifosato não confere vantagem em ambientes naturais, onde herbicidas não são utilizados; a resistência a insetos lepidópteros pode ser uma vantagem no campo, mas não será uma grande vantagem em ambientes naturais, onde convivem centenas de diferentes espécies de artrópodes. Assim, a probabilidade de dano associado com os perigos (o) e (p) é muito baixa e os danos esperados marginais.

Existem apenas três hipóteses de risco relevantes neste caso:

- 1** O possível efeito das plantas transgênicas sobre insetos benéficos ou sobre populações de insetos ameaçadas.
- 2** A possibilidade de gerar resistência em insetos praga pelo uso extensivo da tecnologia.
- 3** A possibilidade de gerar plantas daninhas resistentes ao glifosato pelo uso extensivo da tecnologia.

Embora as proteínas Cry1A e Cry2Ab tenham reconhecida atividade apenas contra um grupo de lepidópteros, raramente a especificidade é tão elevada que se possa assegurar, a priori, a inexistência de impacto sobre espécies valiosas ou vulneráveis. Geralmente as espécies de insetos são muito bem sucedidas. Para que um efeito negativo aconteça, é necessário que muitas circunstâncias particulares ocorram, por exemplo, que a espécie em questão tenha uma predileção por milho, que não haja outras espécies vegetais que

lhes possam servir como refúgio e que a sua população esteja ameaçada de alguma forma.

Apesar das liberações planejadas em Tamaulipas, usando esta variedade de eventos de milho piramidado, concluírem que as populações de insetos benéficos em campos de milho GM permaneciam inalterados, é importante que na etapa piloto sejam feitos estudos para determinar se na região existem espécies que requeiram atenção especial e, em caso afirmativo, estabelecer quais seriam as medidas de gestão relevantes.

A emergência de resistência em populações naturais contra novas moléculas naturais ou sintéticas introduzidas nos ecossistemas é um fenômeno natural e não pode ser evitado; portanto, há necessidade de monitoramento. A diversidade genética das populações normalmente acaba por encontrar uma solução molecular para os novos desafios químicos que o ambiente lhes impõe. A resistência, no entanto, pode ser adiada com medidas adequadas de gestão (“stewardship”), que prolongue a vida útil da tecnologia. Assim, a probabilidade de ocorrência de plantas daninhas e de insetos praga resistentes é baixa, mas não irrelevante. Além disso, os danos à agricultura são médios ou baixos, se organismos resistentes estiverem presentes apenas em algumas plantações ou regiões. Na verdade, este dano não é ambiental, mas econômico.

5.5.4 Estimação do risco



Com base na lista de perigos gerada no item 5.5.2 pode-se proceder ao estudar o binômio probabilidade de exposição / efeitos da exposição (Figura 4, Capítulo 1) para a estimativa dos riscos, no contexto definido anteriormente. As considerações anteriores e as descritas abaixo são parte da rota ao dano ilustrada na Figura 3 do primeiro capítulo deste guia.

A biologia do OGM indica como possível um efeito sobre insetos não alvo. Durante os testes experimentais, foram avaliados os efeitos tóxicos sobre insetos não alvo. Determinou-se que as plantas transgênicas não representam um perigo significativo para as espécies de insetos presentes na área. Estes resultados confirmam os inúmeros estudos realizados em

laboratórios de todo o mundo. Além disso, não há na área de Tamaulipas populações de lepidópteros vulneráveis. Portanto, a probabilidade de ocorrência de impacto é baixa e o dano esperado marginal ou nulo. Uma estimação precisa depende das espécies impactadas (seu significado biológico ou agrônômico e sua vulnerabilidade) e da extensão do dano (se reversível, se impacta populações pequenas ou grandes, etc.). Assim, a composição da probabilidade e danos, de acordo com o algoritmo tabular indica que o risco é negligenciável (Figura 20).

Por outro lado, há uma grande experiência global na adoção de medidas para retardar o aparecimento de resistência em populações de insetos praga e de plantas daninhas (Wakinson et al., 2000). Práticas de gestão conseguiram provar sua eficiência em muitos ambientes e circunstâncias ao longo dos anos, mesmo em escalas comerciais. No entanto, é importante ter em conta que este impacto é econômico, não sobre o meio ambiente. Assim, é necessário tomar medidas adequadas para assegurar que a tecnologia permaneça eficaz pelo maior tempo possível.

Para todos os outros perigos listados em 5.5.2 as probabilidades são muito baixas e os efeitos (consequências) marginais.

		ESTIMATIVA DO RISCO			
PROBABILIDADE	MUITO ALTA	BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
	ALTA	BAIXO	BAIXO	MODERADO	ALTO
	BAIXA	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO	MODERADO
	MUITO BAIXA	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIÁRIA	GRANDE
		CONSEQUÊNCIA			

Figura 20. Estimação do risco de danos em insetos não alvo devido ao milho MON89034 X NK603, em comparação com o milho comercial convencional. A probabilidade de ocorrência de dano é baixa ou muito baixa e o dano esperado marginal ou nulo.

5.5.5 A tomada de decisão



Após estimar o risco de cada um dos perigos individuais apontados na etapa de caracterização do risco, o avaliador pode tirar conclusões sobre a segurança ambiental do milho MON89028 X NK603. Em geral, os vários riscos não são adicionados, mas devem ser considerados em conjunto pelo avaliador ao tomar a decisão final.

Os resultados das liberações planejadas de milho transgênico no México confirmam os resultados de estudos realizados em outros países.

As principais conclusões dos aspectos avaliados são:

- 1 No México é possível conduzir pesquisa com variedades de milho transgênico de forma segura e confiável, pois as estritas medidas de biossegurança dão a necessária garantia.
- 2 O milho GM comporta-se e responde ao ambiente da mesma forma que os milhos convencionais.
- 3 O milho resistente a insetos praga foi eficaz no controle das principais pragas que atacam estes cultivos no México, da mesma forma como foi comprovado em 20 países durante 14 anos.
- 4 O milho GM não apresenta riscos novos para a biodiversidade, uma vez que não houve alteração nas populações de insetos benéficos nas plantações de milho.
- 5 O milho GM foi eficiente no controle das plantas daninhas que infestam os campos de milho no México, tolerando as aplicações do herbicida glifosato.

As hipóteses de risco para cultivos geneticamente modificados em um centro de origem não necessitam ser diferentes das utilizadas em outra região, o que muda é a taxa de exposição e, conseqüentemente, a probabilidade de dano. O centro de origem do milho, a Mesoamérica, é uma região com alta diversidade genética, na qual convivem as espécies silvestres aparentadas com o milho, centenas de variedades crioulas e uma ampla diversidade de microorganismos e animais que evoluíram com o milho e estabeleceram com ele muitas interações ecológicas. A elevada complexidade biológica e a presença de plantas aparentadas, que podem gerar híbridos interespecíficos férteis, levantam muitas hipóteses de risco para híbridos intraespecíficos, em particular no que diz respeito à capacidade destas plantas como invasoras de ecossistemas naturais e causadoras de efeitos nocivos sobre espécies não alvo.

Por esta razão, a possibilidade de testes de campo (liberações planejadas ou ensaios piloto) com milho geneticamente modificado no México está restrita a áreas fora da Mesoamérica. Antes de introduzir o milho geneticamente modificado em regiões de alta diversidade genética, localizadas nas regiões do centro sul e o sudeste do México, ainda será preciso responder a muitas perguntas sobre os fatores que determinam a permanência do teosinte e das plantas do gênero *Tripsacum* nos ecossistemas e, sobre as interações que estabelecem com outros organismos do agroecossistema; mais especificamente, será preciso responder à questão central sobre a capacidade de híbridos inte-respecíficos persistirem em ambientes naturais.

A avaliação feita acima pode concluir com segurança que o milho NK603 x MON89034 é tão seguro para o meio ambiente como o seu homólogo não modificado, desde que sejam respeitadas as condições de cultivo estabelecidas na autorização de liberação no nível de ensaio piloto.

5.6 Levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa Y1979 produtora de óleo combustível (farneseno)

Esta levedura obteve autorização para liberação comercial no Brasil em 2009. A levedura geneticamente modificada expressa a enzima farneseno sintase (FS) de *Artemisia annua*, uma planta medicinal. Devido à ação desta enzima, a levedura consegue converter sacarose no hidrocarboneto farneseno, um sesquiterpeno que pode ser utilizado como óleo combustível e como insumo básico para muitos outros produtos de elevado valor comercial.

5.6.1 Formulação do problema - o contexto da levedura Y1979



Os principais elementos do contexto da levedura Y1979 são o marco legal, a biologia da levedura, a construção genética, assim como outras alterações genéticas adicionadas ao organismo, em particular quanto à produção de novas proteínas, a geração de novos fenótipos, as principais regiões produtoras (ou seja, o meio receptor) e os organismos impactados. Algumas vezes já existe uma familiaridade quanto ao fenótipo estudado ou ainda um histórico de uso seguro do OGM, mas este não é o caso da levedura Y1979.

5.6.1.a O marco legal

O marco regulatório brasileiro para OGM está detalhado no item 5.1.1.a. Correspondem ao marco legal a lei nº 11.105, seu decreto e os regulamentos da CTNBio, assim como outros regulamentos que podem auxiliar na identificação de metas de proteção preferenciais, de acordo com as políticas públicas de meio ambiente nos níveis federal e regional.

Além disso, com base nas leis e na Constituição do país, é possível definir metas de proteção específicas, como a proteção de espécies ameaçadas de extinção ou icônicas, a conservação ou melhoria de qualidade da água e do solo, a proteção de espécies benéficas para a agricultura e a salvaguarda dos recursos genéticos do país.

5.6.1.b A biologia da levedura

A classificação do gênero *Saccharomyces* foi revista recentemente e se aceita hoje que a espécie original, *S. cerevisiae*, deve ser subdividida em pelo menos quatro espécies: *S. cerevisiae*, *S. paradoxus*, *S. bayanus* e *S. pastorianus* (Vaughan-Martini & Martini, 1993). Os híbridos formados pelo cruzamento interespecífico destas quatro espécies são estéreis (Naumov et al. 1994).

As leveduras da espécie *Saccharomyces* apresentam um ciclo de vida onde se alternam as fases haploide e diploide. Ambos os tipos celulares podem se reproduzir de forma assexual por mitose. A divisão celular ocorre por brotamento (gemulação). Somente as células haploides (do tipo *a* ou α) podem se reproduzir sexualmente, com a formação de um diploide estável, que também é capaz de reproduzir-se de forma assexual. Em condições desfavoráveis, as células diploides optam pela meiose, com a formação de quatro esporos haploides, metade do tipo sexual *a* e a outra metade do tipo sexual α . As células tipo *a* produzem o “Fator *a*”, um peptídeo com função de feromona, que indica a presença de células deste mesmo tipo às células do sexo oposto α . As células tipo *a* só respondem ao Fator α , produto das células tipo α , e vice versa, desencadeando a formação de uma protuberância nas leveduras na direção do gradiente de feromona. As células tipo *a* transcrevem genes responsáveis pela produção do fator *a* e de um receptor de membrana, Ste2p, que se une ao fator α e desencadeia um conjunto de sinais intracelulares. As

células do tipo *a* reprimem a expressão dos genes responsáveis pela formação das proteínas necessárias à síntese do fator α e do receptor de membrana Ste3p. Nas células do tipo α ocorre exatamente o inverso. O processo de ativação e repressão transcricional diferencial é controlado pelos alelos do locus MAT: o alelo *mata* codifica para a proteína $\alpha 1$, enquanto que *mata* codifica para $\alpha 1$ e $\alpha 2$.

A forma haploide é capaz de mudar de sexo se um único tipo celular, *a* ou α , estiver presente no meio: ao fim de algumas gerações já é possível detectar-se a presença da feromona contrária e um incremento no número de células diploides. As linhagens de *S. cerevisiae* utilizadas em laboratório são incapazes desta mudança devido a uma alteração do gene HO, que determina a mudança de sexo; assim, é possível a propagação estável de qualquer um dos dois tipos celulares de haploides, nunca se chegando à formação de diploides, em condições normais. As leveduras possuem cópias do locus MAT, que estão silenciadas e por tanto não interferem de início na determinação sexual. Durante a mudança do tipo sexual da levedura ocorre uma troca genética do locus MAT por uma das cópias adicionais silenciosas, denominadas HML (que geralmente têm uma cópia silenciosa do alelo *mata*) e HMR (que geralmente têm uma cópia silenciosa do alelo *mata*). Ambos loci estão no cromossomo III à direita (HMR) e à esquerda (HML) do locus *mat* em qualquer de suas variantes alélicas. O processo de mudança sexual se dá por conversão gênica mediada pela endonuclease HO.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi o primeiro organismo utilizado em processos biotecnológicos para a produção de vários alimentos. Em uma aldeia neolítica na China foram encontradas cerâmicas com vestígios de uma bebida fermentada de arroz, mel e frutas de nove mil anos de idade (McGovern et al., 2004). Esta levedura, presente na produção de bebidas alcoólicas e pão, é um clássico representante da lista GRAS (*Generally Recognized as Safe* - Geralmente Reconhecido como Seguro), considerada sem restrições para consumo humano de acordo com o FDA (*Food and Drug Administration / EUA*). A confiança em sua biossegurança também levou os Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos (*National Institutes of Health* - NIH) a liberar os experimentos com leveduras da maioria das restrições habituais impostas a outros microorganismos; a Agência de Proteção Ambiental (EPA / EUA) também exime o *S. cerevisiae* da maioria das cláusulas da Lei de Controle de Substâncias Tóxicas. A levedura *S. cerevisiae* só foi descrita como patogêni-

ca em casos clínicos isolados de pacientes com imunodeficiência grave. Há também relatos de casos raros de alergia, especialmente entre trabalhadoras de panificadoras.

Além de seu papel na produção de alimentos, essa levedura está sempre presente ao nosso ambiente, nas cascas de frutas e na superfície de grãos. A segurança de seu uso e sua importância na indústria são evidentes; por exemplo, a levedura é utilizada nas cinco principais produções industriais derivadas do processo de fermentação: produção de cerveja, vinho, biomassa para complemento proteico, fermento para panificação e ácido cítrico. O seu efeito como um probiótico para humanos e animais foi evidenciado em vários estudos (Gaioto, 2005; Caballero-Córdoba e Sgarberi, 2000) e tem sido amplamente utilizada em alimentos para animais como fonte de proteína e outros nutrientes.

No caso de farneseno, o óleo é um ingrediente comum em muitas frutas, não existindo relatos de toxicidade ou alergenicidade a ele associados. Não há leveduras que naturalmente produzam farneseno. Tampouco há relatos prévios do uso industrial da levedura Y1979, mas há relatos do uso seguro de outras leveduras geneticamente modificadas aprovadas para o consumo humano, no campo da produção de vinho (EUA e Canadá e no Reino Unido) e na produção de pão e cerveja (Aldhous, 1990; Dequín, 2001).

5.6.1.c O meio receptor e os organismos impactados

O pedido de liberação comercial da levedura transgênica requer seu uso industrial, para a fermentação de melaço de cana de açúcar em dornas e cubas, seguida da esterilização de todo o material remanescente da fermentação, incluindo qualquer gás de fermentação gerado nas dornas. Portanto, em princípio, não haveria impacto dos OGM ao meio ambiente, mas apenas de seu derivado (o fermentado livre de OGM vivos). No entanto, uma pequena fração da levedura pode escapar ao processo de esterilização, terminando por ser descartada no ambiente. O ambiente receptor principal é, evidentemente, o solo onde a levedura é armazenada em tanques de decantação. Depois de um tempo variável nos tanques, o material é descartado ou utilizado como fertilizante em diferentes plantios. Assim, existe a possibilidade de dispersão de levedura Y1979 no ambiente agrícola. Neste ambiente, se os poucos sobreviventes puderem se multiplicar, podem se es-

tabelecer no novo ambiente em um período de tempo variável, dependendo da competição com as leveduras autóctones. Durante este período, pode afetar outros microorganismos (por competição) e impactar organismos que se alimentam de leveduras.

No entanto, não existem organismos que se alimentam exclusivamente de leveduras e a linhagem Y1979 de *S. cerevisiae* não parece ser de forma alguma competitiva em ambiente agrícola ou selvagem. Portanto, é difícil estabelecer um conjunto de metas de proteção, além daquelas, gerais, especificadas na seção 1 deste guia, porque não há uma correlação clara entre a nova característica genética (produção de farneseno) e uma alteração na capacidade da levedura para torná-la mais competitiva ou tóxica. Contudo, pode-se tomar como parâmetros para o balisamento de um impacto hipotético alguns organismos representativos dos solos e da água no ambiente agrícola, especialmente invertebrados.

5.6.1.d A construção genética, com ênfase nas alterações fenotípicas e na expressão de proteínas

A transformação da levedura teve como propósito a inserção de um transgene que codifica a enzima farneseno sintase (FS), sob o controle de um promotor forte. Outros genes da via metabólica do mevalonato foram superexpressos para permitir uma carga adequada de produtos metabólicos que servem de substrato para a enzima FS, como mostrado na Figura 21 abaixo. Todos os genes e seus promotores foram inseridos no genoma nuclear da levedura. Somente o gene da farneseno sintase provém de outro organismo (da planta *Artemisia annua*), sendo todos os demais genes e promotores originários da própria levedura.

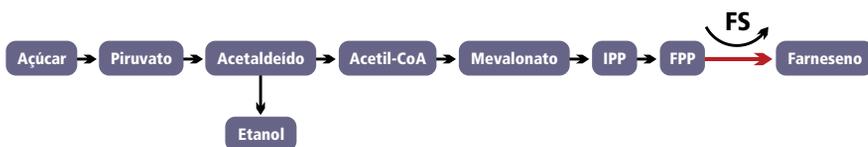


Figura 21: Rota metabólica de processamento de açúcar em farnesil pirofosfato (FPP). A superexpressão das enzimas necessárias à produção de mevalonato permite uma redução da produção de etanol e fornece o substrato (FPP) para a enzima farneseno sintase (FS), que converte o farnesil pirofosfato em farneseno.

Sinopse da estratégia de construção genética

Primeiramente, uma cópia suplementar de cada gene da rota do mevalonato, superexpressa sob o controle do promotor pGAL1.10, foi adicionada ao genoma da levedura. Em seguida, um fragmento de DNA contendo os genes *ERG10*, *ERG13*, duas cópias do gene *HGM1* e uma cópia do gene para a enzima farneseno sintase foi integrado ao locus *GAL80*, sob o controle do promotor correspondente do gene *GAL7*, que foi eliminado do genoma. Em continuação, um segundo fragmento de DNA, contendo os genes *ERG12*, *ERG8* e uma cópia suplementar do gene *GAL4*, foi integrado, estando todos os genes sob o controle do promotor do gene *GAL4*, modificado para reduzir a repressão por glicose. Posteriormente, uma cópia do gene da enzima farneseno sintase foi inserida no gene *LEU2*, sob o controle do promotor do gene *GAL7*, eliminando-se também este gene. A integração seguinte permitiu a substituição do promotor *ERG9* nativo por um fragmento de DNA contendo os genes *ERG19*, *ID11*, *ERG20* e outra cópia do gene da farneseno sintase, tudo sob o controle do promotor do gene *GAL7*. O promotor reprimível por cobre do gene *CTR3* foi inserido acima do gene *ERG9* para, através de sua repressão na presença de cobre, forçar uma redução da produção de esqualeno (o principal desvio de metabolitos na produção de farneseno) pela adição de cobre à dorna. Em seguida, foi removido o marcador auxotrófico *ura3*, eliminado o gene *ste5* (*knock-out*) pela inserção de um fragmento de DNA contendo o gene *ura3* e uma cópia truncada do gene *hmg1*, sob o controle da região promotora do gene *TDH3*. Por último, o gene *ime3* foi eliminado pela integração de um fragmento de DNA contendo o gene *LEU2* e uma cópia adicional do gene para a enzima farneseno sintase, sob o controle do promotor do gene *TDH3*.

Como consequência da manipulação genética, a levedura não se reproduz sexualmente nem esporula, devido à eliminação dos genes *STE5* e *IME1*. Além disso, todos os genes de seleção (para resistência a antibióticos) foram também eliminados.

5.6.2 Formulação do problema – lista de perigos



Nesta parte da avaliação de risco devem ser estabelecidos perigos (com riscos hipotéticos) associados às metas de proteção definida na etapa anterior (neste caso, a escolha de artrópodes benéficos para a agricultura, a qualidade do solo e da água, etc.) No caso da

linhagem GM Y1979, pode-se elencar diversos perigos. Neste passo, não há ainda necessidade de estabelecer um mecanismo causal cientificamente demonstrável. A lista abaixo resume alguns eventos que podem causar danos às metas de proteção, tendo em conta também o ambiente receptor, a biologia e genética de leveduras:

- a** o fluxo de genes e subsequente fixação do transgene em populações ambientais de *S. cerevisiae*;
- b** o fluxo de genes e subsequente fixação do transgene em outras espécies sexualmente compatíveis;
- c** o fluxo de genes e subsequente fixação do transgene em espécies sexualmente incompatíveis, i.e., transferência horizontal de genes;
- d** mudanças no comportamento da levedura (infectividade, patogenicidade, etc.) e impacto nos organismos da cadeia trófica;
- e** Alterações da microbiota do solo;
- f** Impacto negativo sobre organismos comumente associados aos locais de descarte de leveduras (em especial sobre invertebrados aquáticos e do solo);
- g** Alterações na composição mineral e nas propriedades físicas do solo.

Embora a determinação dos perigos acima mencionados possa ser muito especulativa, ela deve ser preferencialmente baseada na experiência de liberações comerciais de eventos semelhantes e no conhecimento de seus efeitos sobre o meio ambiente, assim como em dados científicos, sempre que disponíveis.

5.6.3 Caracterização do risco



A linhagem GM Y1979 não é capaz de cruzamento nem esporulação. Por conseguinte, a probabilidade de transferência dos transgenes para outro indivíduo da mesma espécie é efetivamente nula. Adicionalmente, por causa destas modificações, a sobrevivência e a capacidade competitiva da levedura no ambiente agrícola são nitidamente inferiores à da linhagem selvagem. Da mesma forma, a transferência horizontal de genes é muito pouco provável, em especial no caso da linhagem Y1979, que não possui plasmídeos.

Ao mesmo tempo, mudanças de comportamento não são esperadas. Na verdade, os estudos apresentados na documentação pertinente ao pedido de

liberação comercial da levedura Y1979 no Brasil mostram que, em condições de fermentação controlada, a linhagem recombinante não é mais competente do que as linhagens comuns comerciais para reprodução na dorna. De forma semelhante, experimentos usando solo da área agrícola de produção de cana em vasos mostram que a sobrevivência da cepa Y1979 no solo não excede 120 dias, e que ela é menos competitiva que as leveduras nativas para se reproduzir no solo dos vasos. Além disso, verificou-se que a linhagem Y1979 é muito mais sensível ao calor utilizado no processo de esterilização que a linhagem comercial, com a sobrevivência de 3×10^{-5} após 60 segundos a 66 °C, duas ordens de grandeza menor, portanto, que a linhagem controle não modificada PE-02. Ambas as linhagem podem ser eficientemente inativadas por exposição a 90 °C pelo tempo mínimo de 90 segundos.

As alterações genéticas na linhagem Y1979 não envolvem genes de patogenicidade ou de infecção, nem codificam novos produtos, com a exceção do gene da enzima farneseno sintase. Como resultado da transformação genética, a linhagem é capaz de excretar e acumular farneseno. O farneseno é um óleo aromático que contribui para o sabor de muitas plantas, também encontrado em animais. De acordo com o Banco de Dados de Pesticidas (<http://www.pesticideinfo.org/>), só é sabido que o beta-farneseno não é um inibidor de colinesterase. Não há informação suficiente para uma nota final sobre a toxicidade aguda, potencial carcinogênico, como contaminante potencial de água, nem como toxina que comprometa o desenvolvimento e a reprodução de animais, atuando como antagonista sistêmico ou disruptor endócrino. Nenhum estudo até agora indicou o farneseno como uma substância tóxica ou poluente.

Ainda assim, a empresa proponente empreendeu uma série de estudos para avaliar o impacto da linhagem Y1979 em diferentes organismos, como *Daphnia similis* (um microcrustáceo), *Dugesia tigrina* (a planária de água doce), *Danio rerio* (o peixe paulistinha), *Folsomia candida* (um artrópode de solo usado como representante da mesofauna) e *Eisenia andrei* (minhoca empregada como representante da macrofauna), e concluíram que a linhagem Y1979 não é mais tóxica que as linhagens comerciais de *S. cerevisiae*. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre as linhagens Y1979 e PE-2 quanto à influência sobre a abundância da diversidade microbiana (alfa-proteobactérias, actinobactérias e fungos) no solo durante um período de 60 dias. A linhagem Y1979 não teve efeito significativo sobre os microorganismos normalmente utilizados como indicadores de saúde do solo, tais como o *Metarhizium ani-*

sopliae (um agente patogênico que mata insetos nocivos para as culturas), *Trichoderma harzianum* (um antagonista de fungos fitopatogênicos), *Bacillus pumilus* CL16 (bactéria decompositora de celulose) e *Pleurotus sajor-caju* (fungo decompositor de lignina). Além disso, devido à sua atividade como feromona, também foram conduzidos e apresentados os resultados de testes para avaliar os efeitos potenciais do farneseno na comunidade de insetos em geral. Em um estudo de cinco meses, não foram identificados impactos na comunidade de insetos (herbívoros, predadores e parasitóides).

Tampouco se esperam efeitos nos depósitos de água. Corroborando esta conclusão, os estudos empreendidos pela proponente mostraram que a adição das linhagens Y1979 e PE-2 controle na água afeta de forma equivalente vários parâmetros físico-químicos da água.

Foi também avaliado o impacto sobre o solo. Quando as vinhaças produzidas pelas linhagens Y1979 e PE-2 controle foram adicionadas a vasos com terra, não se observou diferença significativa no crescimento das plantas de cana-de-açúcar ou na composição de solo.

5.6.4 Estimação do risco



Com base na lista de perigos elaborada anteriormente (item 5.6.2) pode-se proceder ao estudo do binômio probabilidade de exposição / efeitos da exposição (ou consequências), como inicialmente mostrado na primeira Seção deste guia (Figura 4, Capítulo 1), chegando-se desta forma à estimação dos riscos, no contexto previamente definido. As considerações abaixo são parte da rota ao dano detalhada na Figura 3 do primeiro capítulo deste guia.

A biologia do OGM indica um possível efeito sobre o solo, uma vez que a vinhaça é utilizada como fertilizante. Este efeito poderia ser talvez diferente do observado com o uso de vinhaça produzida por leveduras convencionais. A probabilidade de haver um efeito diferencial sobre a fertilidade do solo (avaliado pela composição do solo e crescimento de plantas em casa de vegetação) é muito pequena, uma vez que a vinhaça não é o fator com maior peso sobre a fertilidade do solo, entre todos os manejos e insumos empregados nas plantações de cana-de-açúcar. Estas considerações teóricas foram confirmadas pelos estudos realizados pela proponente, que demonstram que

a vinhaça produzida pela linhagem Y1979 produz discretas alterações na composição e na fertilidade do solo, mas o faz de forma idêntica à levedura não GM comercial, isto é, não há risco de novo. Portanto, a probabilidade de ocorrência de impacto é baixa ou muito baixa e o dano esperado marginal ou nulo. Assim, a composição da probabilidade de ocorrência e da gravidade dos danos, de acordo com o algoritmo tabular, indica que o risco é insignificante (Figura 22).

Para todos os outros casos, as probabilidades são muito baixas ou nulas e os efeitos marginais.

		ESTIMATIVA DO RISCO			
		BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
PROBABILIDADE	MUITO ALTA	BAIXO	MODERADO	ALTO	ALTO
	ALTA	BAIXO	BAIXO	MODERADO	ALTO
	BAIXA	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO	MODERADO
	MUITO BAIXA	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAIXO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIÁRIA	GRANDE
		CONSEQUÊNCIA			

Figura 22. Estimativa dos riscos de impacto negativo no solo devido ao uso de vinhaça derivada da fermentação de melação de cana-de-açúcar pela linhagem Y1979 de levedura, em comparação com a linhagem comercial convencional. A probabilidade de ocorrência de impacto é baixa ou muito baixa e o dano esperado marginal ou nulo.

5.6.5 A tomada de decisão



Após estimar os riscos para os perigos individuais apontados na caracterização de risco, o assessor de risco pode concluir sobre a segurança ambiental da linhagem Y1979 de *S. cerevisiae*. Em geral, os riscos para diferentes perigos não se adicionam, mas devem ser levados em conta em conjunto pelo avaliador na sua decisão final.

O processo aqui descrito é essencialmente semelhante ao seguido pela CTNBio na avaliação da segurança ambiental da linhagem Y1979 de *S. cerevisiae*, que levou à liberação comercial desta levedura para uso em dornas e cubas de fermentação industrial, em 2009, no Brasil. Embora a empresa proponente tenha produzido uma quantidade enorme de dados que confir-

mam um nível idêntico de impacto entre a linhagem Y1979 e a comercial, a maioria das informações não foi considerada relevante para a avaliação de risco.

A avaliação feita acima permite concluir com certeza razoável que a linhagem geneticamente modificada de levedura Y1979 é tão segura para a produção de farneseno como a sua homóloga não modificada, desde que sejam obedecidas as condições de uso estabelecidas na autorização da liberalização comercial e de uso industrial.

Capítulo 6

Referências

- ACRE-DEFRA (2007). Managing the Footprint of Agriculture: Towards a Comparative Assessment of Risks and Benefits for Novel Agricultural Systems. Report of the ACRE Sub-Group on Wider Issues raised by the Farm-Scale Evaluations of Herbicide Tolerant GM Crops. Revised after public consultation.
- ALDHOUS, P. (1990). Genetic engineering: Modified yeast fine for food. *Nature* 344: 186
- ARAGÃO F.J.L., BARROS L.M.G., BRASILEIRO A.C.M., RIBEIRO S.G., SMITH F.D., SANFORD J.C., FARIA J.C. AND RECH E.L. (1996). Inheritance of foreign genes in transgenic bean (*Phaseolus vulgaris*) co-transformed via particle bombardment. *Theor. Appl. Gen.* 93: 142-150.
- ARAGÃO, F.J.L., BRONDANI, R.P.V., BURLE, M.L. (2011). *Phaseolus*. In Wild crop relatives: genomic and breeding resources, Chittaranjan Cole Ed., Springer Verlag Berlin, pgs 223-236. DOI: 10.1007/978-3-642-14387-8_11
- BORÉM, A. (2001). Escape gênico & Transgênicos. Suprema Gráfica Editora Viçosa. 206.p.
- BRASIL (2005). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Comunicado Técnico 242, Zonas de Exclusão de Algodoeiros Transgênicos para Preservação de Espécies de *Gossypium* Nativas ou Naturalizadas. Brasília, 7p. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/275941/1/COMTEC242.pdf>.
- BRASIL. (2010). Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Cadernos de Biossegurança. http://www.ctnbio.gov.br/upd_blob/0000/8.pdf. Acesso em 15 de Agosto de 2012.

- BROOKES, G. & BARFOOT, P. (2010). *GM crops: global socio-economic and environmental impacts 1996-2008*. PG Economics Ltd, UK. Dorchester, UK.
- BROWN, W. L.; GOODMAN, M.M. (1977). *Races of Corn In: Corn and corn improvement*. American Society of Agronomy. Madison, p. 49-88.
- CABALLERO-CÓRDOBA, G.M., SGARBIERI, V.C. (2000). Nutritional and toxicological evaluation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) biomass and a yeast protein concentrate. *J. Sci. Food Agricult.* 80: 341-351.
- CELERES. (2012). Relatório Biotecnologia, 6 de Agosto de 2012, 7 pp. Acesso em http://www.celeres.com.br/pdf/RelBiotecBrasil_1201_vf.pdf.
- COFEPRIS (2005). *Procedimiento de Evaluación de Inocuidad de Organismos Genéticamente Modificados destinados al uso o consumo humano, procesamiento de alimentos, biorremediación y salud pública*. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Secretaría de Salud. 52 págs.
- CONAB (2012). Acompanhamento da safra brasileira. Grãos. Safra 2011/2012. Junho 2012. http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_06_12_16_15_32_boletim_portugues_junho_2012.pdf. Accedido en 15 de Agosto de 2012.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). (2011). Base de datos de maíces nativos y sus parientes silvestres (corte al 14 de octubre de 2010 con 24,057 registros). Proyecto Global de Maíces “Recopilación, generación, actualización y análisis.
- DALE, P.; IRWIN, J. (1995). The release of transgenic plants from containment, and the move towards their widespread use in agriculture. *Euphytica.* 85:425-431.
- DEBOUCK, D. G.(1988). Phaseolus germplasm exploration. In: GEPTS, P. (Ed.). *Genetic resources of Phaseolus beans*. Kluwer, Dordrecht, pp 3-39.
- DEQUIN, S. (2001). The potential of genetic engineering for improving brewing, winemaking and baking yeasts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56: 577-588.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2011). *Guidance on the Post-Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants*, 43p. www.efsa.europa.eu/en/consultations/call/gmo110418.pdf.
- EVANS, A.M. (1973). Commentary upon plant architecture and physiological efficiency in the field bean. In: *Potential of field beans and other food legumes in Latin America*. Cali: CIAT, pp.279-286.
- EVANS, A.M. (1976). Beans. In: Simmonds, N. W. (ed.). *Evolution of crop plants*. Longman, London, England, p. 168-172.
- FAO (2012). *Food and Agricultural commodities production. Countries by commodity. Beans, dry*. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em agosto/2012

- FAO/WHO EXPERT CONSULTATION ON THE APPLICATION OF RISK COMMUNICATION TO FOOD STANDARDS AND SAFETY MATTERS. (1998). The application of risk communication to food standards and safety matters, 31 p. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/x1271e/x1271e00.pdf>
- FREIRE, E. C.; MOREIRA, J. de A. N.; SANTOS, J. W. dos; ANDRADE, F. P. de (1998). Relações taxonômicas entre os algodoeiros mocó e *Gossypium mustelinum* do Nordeste brasileiro. *Pesq. Agrop. Brasileira*, v.33, n.10, p.1555-156.
- FRYXEL P.A.(1979). The natural history of the cotton tribe (Malvaceae, Tribe Gossipieae)., College Station - Texas A&M Univ. Press, TX, USA, 264 p.
- GAIOTTO, J.R. (2005). Utilização de levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) e seus subprodutos na alimentação de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), in Faculdade de Engenharia de Alimentos e Zootecnia 2005, Universidade de São Paulo: Pirassununga, SP. 87 p.
- GEPTS, P. (1988). Origin and evolution of common bean. Past events and recent trends. *Hort. Sci.* 33: 1124 - 1130
- GEPTS P, ARAGÃO F, DE BARROS E, BLAIR MW, BRONDANI R, BROUGHTON W, GALASSO I, HERNÁNDEZ G, KAMI J, LARIGUET P, MCCLEAN P, MELOTTO M, MIKLAS P, PAULS P, PEDROSA-HARAND A, PORCH T, SÁNCHEZ F, SPARVOLI F, YU K. (2008). Genomics of Phaseolus beans, a major source of dietary protein and micronutrients in the tropics. In: Moore P, Ming R (eds), *Genomics of Tropical Crop Plants*, Springer: pp. 113-143
- IBGE (2010) – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agrícola municipal. Culturas temporárias e permanentes. Vol. 37. http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). Censo agrícola, ganadero y forestal (2007). http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/Agro/ca2007/Resultados_Agricola/default.aspx, acesso julho 2012
- KWAK M, KAMI J, GEPTS P. The putative Mesoamerican domestication center of *Phaseolus vulgaris* is located in the Lerma-Santiago Basin of Mexico. *Crop Sci* 49: 554-563. DOI: 10.2135/cropsci2008.07.0421
- MANGLESDORE, P.C. (1974). Corn: its origin, evolution and improvement. Belknap Press of Harvard University Press, 262 p.
- MCCLEAN PE, LAVIN M, GEPTS P, JACKSON SA (2008). *Phaseolus vulgaris*: a diploid model for soybean. In: Stacey G (ed) *Genetics and Genomics of Soybean*. Springer, New York, pp 55-76
- MCGOVERN, P.E., ZHANG, J., TANG, J., ZHANG, Z., HALL, G.R., MOREAU, R.A., NUÑEZ, A., BUTRYM, E.E., RICHARDS, M.P. WANG, C-S, CHANG, G., ZHAO, Z., WANG, C. (2004) Fermented beverages of pre- and proto-historic China. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:17593-17598
- MORRIS, M. ; LÓPEZ-PEREIRA, M. (1999). Impacts of Maize Breeding Research in Latin America, 1966-1977. México. CIMMYT. p 45.

- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (1989). Field testing genetically modified organisms: Framework for decisions. Washington DC: National Academy Press.
- NAUMOV, G.I., NIKONENKO, T.A., KONDRATEVA, V.I. (1994). A taxonomic identification of *Saccharomyces* from Yeast Genetic Stock Center of University California. *Genetika* 30: 45-48.
- PACZKA, R., MARTÍNEZ, M. Y SÁNCHEZ, G. (2000). Recursos Fitogenéticos Autóctonos. En: Recursos Fitogenéticos de México para la Alimentación y la Agricultura, Informe Nacional (P. Ramírez, R. Ortega, A. López, F. Castillo, M. Livera, F. Rincón y F. Zavala, editores). Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas y Sociedad Mexicana de Fitogenética A. C. pp. 27-50.
- PARROTT, W., CHASSY, B., LIGON, J., MEYER, L., PETRICK, J., ZHOU, J., HERMAN, R., DELANEY, B., LEVINE, M. (2010). Application of food and feed safety assessment principles to evaluate transgenic approaches to gene modulation in crops. *Food Chem Toxicol* 48: 1773–1790.
- PATERNIANI, M.E.A.G.Z. (2001) Use of heterosis in maize breeding: History, Methods and Perspectives. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.1, n.2, p.159-178.
- PERCIVAL, A. E., WENDEL, J.E., STEWART, J.M.. (1999). Taxonomy and germplasm resources. p. 33-63. In C. W. Smith and J. T. Cothren (eds.) *Cotton Origin, History, Technology, and Production*. John Wiley & Sons, Inc., New York.)
- PIRES, C. S. S.; PEREIRA, F. F. O. ; SILVEIRA, F. A. ; BARROSO, P. A. V. ; SUJII, E. R.; LAUMANN, R.; FONTES, E. M. G. (2005). Fauna de abelhas em espécies cultivadas e não cultivadas de algodão *Gossypium* spp. In: ANAIS DO V CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, Salvador, Brasil.
- ROMEIS, J.; BARTSCH, D.; BIGLER, F.; CANDOLFI, M. P.; GIELKENS, M. M.; HARTLEY, S. E.; HELLMICH, R. L.; HUESING, J. E.; JEPSON, P. C.; LAYTON, R.; QUEMADA, H.; RAYBOULD, A.; ROSE, R. I.; SCHIEMANN, J.; SEARS, M. K.; SHELTON, A. M.; SWEET, J.; VAITUZIS, Z.; WOLT, J. D. (2008). Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to non target arthropods. *Nat. Biotechnol.*, v. 26, n. 2, p.203-8.
- SÁNCHEZ, G.J.J. (2011). Diversidad del Maíz y el Teocintle. Informe preparado para el proyecto: “Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México”. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Manuscrito.
- SANCHEZ JUNIOR, J. L. B.; MALERBO-SOUZA, D. T. (2004). Frequência de insetos na polinização e produção do algodão. *Acta Scientiarum (Agronomia)*, v. 26, n. 4, p. 461-165.
- SASSON, A. 2006. Plant and agricultural biotechnology. Achievements, prospects and perceptions. *Coordinación de Ciencia y Tecnología, De Nuevo león, México*, 444p
- SINGH, S.P. (1989). Patterns of variation in cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 43(1): 39-57. DOI: 10.1007/BF02859324

- SMARTT, J. (1980). Evolution and evolutionary problems in food legumes. *Econ. Bot.* 34 (3): 219-235, DOI: 10.1007/BF02858642
- SMARTT, J. (1978). The evolution of pulse crops. *Econ. Bot.* 32(2): 185 – 198, DOI: 10.1007/BF02866872
- UNEP/CBD/BS/AHTEG-RA&RM/2/5 (2010). Final Report of the Ad Hoc Technical Expert Group on Risk Assessment and Risk Management Under the Cartagena Protocol on Biosafety, de 5 de maio de 2010. 40p. <http://www.cbd.int/doc/meetings/bs/bsrarm-02/official/bsrarm-02-05-en.pdf>.
- VAUGHAN-MARTINI, A., MARTINI, A. (1993) – A taxonomic key for the genus *Saccharomyces*. *System. Appl. Microbiol.* 16:113-119
- VAVILOV, N.I. (1951). The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Chronica Botanica* 13: 1-366
- WAKINSON, S., FRECKLETON, R., ROBINSON, R., SUTHERLAND, W. (2000). Prediction of biodiversity response to genetically modified herbicide-tolerant crops. *Science* 289. 1554-1557.
- WENDEL, J.F. (1989) – New World tetraploid cottons contain Old World cytoplasm. *PNAS (USA)* 86: 4132-4136
- WENDEL, J.F., BRUBAKER, C.L., PERVIVAL, A.E. (1992). Genetic diversity in *Gossypium hirsutum* and the origin of Upland cotton. *Am. J. Bot.* 79: 1291-1310
- WOLT, J. D.; KEESE, P.; RAYBOULD, A.; FITZPATRICK, J. W.; BURACHIK, M.; GRAY, A.; OLIN, S. S.; SCHIEMANN, J.; SEARS, M.; WU, F. (2010) Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants. *Transgenic Research*, v. 19, n. 3, p. 425-36.

Apêndice I

Importância do marco regulatório

No Brasil, a legislação é específica para a biossegurança de OGM e está baseada na Lei n° 11.105, de 24 de março de 2005, em seu decreto correspondente e numa série de resoluções e regulamentos que regem os aspectos específicos de biossegurança dos OGM (<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/12840.html>).

Depois de reformas substanciais do marco regulatório, o uso de culturas OGM ganhou impulso a partir de 2005, com a aprovação de mais de 30 variedades de milho, algodão e soja resistente a insetos ou tolerantes a herbicidas, além do feijão resistente a vírus (Figura 23). Como consequência, a adoção da biotecnologia no campo tem crescido rapidamente, com mais de 90% da soja e 70% do milho sendo geneticamente modificado. Além das plantas transgênicas, o Brasil adotou a utilização de OGM em vacinas, testes diagnósticos e produção de enzimas, hormônios e óleo combustível. Em futuro próximo, espera-se que animais geneticamente modificados também sejam aprovados para uso comercial, tanto na produção de alimentos (peixe, porco) como no controle de doenças endêmicas (mosquitos). Prevê-se também a aprovação de novas culturas OGM, tais como eucalipto, cana de açúcar e culturas alimentares importantes no Brasil, como o arroz.

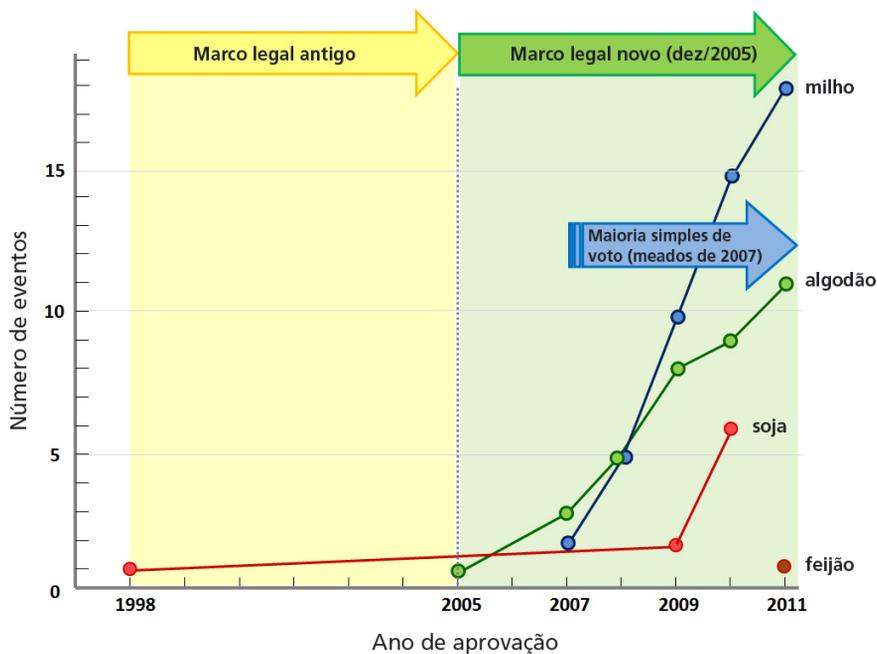


Figura 23: Número de eventos de plantas geneticamente modificadas aprovados pela CTNBio para liberação comercial no Brasil. Há um aumento inicial no número de variedades autorizadas a partir da nova lei de biossegurança (até o final de 2005) e um claro aumento da taxa de aprovações depois da adoção de uma maioria simples de votos na plenária como critério de aprovação dos pedidos de liberação comercial (em meados de 2007). É importante destacar que o milho teve uma adoção mais rápida que os outros cultivos.

International Life Sciences Institute – ILSI

O International Life Sciences Institute (ILSI) é uma associação internacional, sem fins lucrativos, fundada em 1978. Tem sede em Washington D.C., EUA, e seções regionais espalhadas pelo mundo: Argentina, Brasil, Europa, Índia, Japão, Coreia, México, Norte da África e região do Golfo, América do Norte, Região Norte Andina, Região Sul Andina, África do Sul, Sudeste da Ásia, ponto focal na China, além do ILSI Health and Environmental Sciences Institute (HESI).

O principal objetivo do ILSI é a manutenção de um fórum permanente de atualização de conhecimentos para solução de problemas técnico-científicos que contribuam para a Saúde da população e sejam de interesse comum a empresas, órgãos do governo, universidades e institutos de pesquisa.

O ILSI está filiado à Organização Mundial da Saúde (OMS) como entidade não governamental, detendo status de consultor especializado junto à Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO). Por meio da união de esforços de cientistas da academia, do governo e das indústrias, o ILSI Brasil foi fundado em 1990 com o objetivo de contribuir para o melhor entendimento de questões científicas relacionadas à nutrição, biotecnologia e avaliação do risco.

desenho gráfico - Carlos Andreotti (LCT)
diagramação - Osmar Ferreira dos Santos (LCT)

Foto de capa: campo experimental de maiz GM
em Zamorano, Honduras

Impresso no Brasil pela ILSI Brasil
novembro de 2012

Apresentação

O lançamento deste guia é uma iniciativa oportuna concebida por um grupo de especialistas em biotecnologia, que dedicou parte de seu tempo para transmitir, de forma simples e didática, os passos da avaliação do risco ambiental de OGM. Os autores também adicionaram exemplos das medidas eficazes para redução de risco e mitigação sempre que houver um risco para o ambiente identificado na avaliação previa à autorização de liberação comercial de um produto.

O objetivo maior do guia é que ele seja usado no dia-a-dia como uma referência rápida e clara para resolver as questões de risco levantadas, permitindo seguir caminhos seguros e específicos para a avaliação de risco de cada evento de transformação gerado pela biotecnologia moderna. Espero que este guia seja amplamente utilizado nos diversos países que adotaram ou pretendem adotar a tecnologia de recombinação genética para o desenvolvimento de novas variedades, raças e linhagens de organismos.

Agosto de 2012

Prof. Dr. Flávio Finardi

Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
(CTNBio) - Brasil

