

Pedido de vista do Milho Herculex

Este parecer examina o processo 01200.007232/2006–07, de parte da Du Pont do Brasil – Divisão Pioner Sementes Ltda e Dow AgroSciences. Trata-se de pedido de liberação comercial de milho geneticamente modificado, mais especificamente, do evento denominado TC 1507, contendo os transgenes cry1F e pat. Incorporados no milho Bt Cry1F 1507, estes genes comandam expressão das proteínas Cry1F e PAT, que conferem, respectivamente, efeito inseticida sobre lepidópteros, e tolerância ao herbicida glufosinato de amônio.

Neste parecer também são analisados alguns tópicos expostos nos demais pareceres, em especial aqueles relacionados à biossegurança.

Parecer

O processo de construção do milho Bt Cry1F 1507 embute riscos não negligenciáveis, sendo nossa interpretação que o dossiê não oferece elementos que permitam segurança à tomada de decisão, por parte da CTNBio, quanto à sua liberação comercial.

Nossos Argumentos são os seguintes:

1 Quanto ao método de construção do evento:

O método de biobalística, aqui adotado, parte do pressuposto forte de que a biologia, em que pese muito mais complexa do que a tecnologia, pode ser completamente dominada por esta, mesmo quando as técnicas utilizadas se resumem a uma sucessão de decisões baseada no método das tentativas. As implicações desta condição de aleatoriedade, em termos de possibilidades de perturbações no genoma do receptor, com seus eventuais desdobramentos em termos de riscos associados à sobre-expressão ou ao silenciamento de genes, são discutidas em diversos estudos (ver Smith *et al.*, 2001; Theuns *et al.*, 2002; Wilson *et al.*, 2004, entre outros).

Casos de piramidização, ao incorporar mais de um transgene, ampliam as possibilidades de impacto da inserção, sobre as milhares de rotas metabólicas envolvidas no processo de desenvolvimento vegetal. Estes riscos podem ser depreendidos de manifestação da Dra Martina Newell McGloughlin (Universidade da Califórnia), ocorrida durante o **Workshop Bases Científicas para Avaliação de Risco de OGMs Como Alimento**, promovido pelo International Life Sciences Institute (ILSI Brasil), em parceria com a EMBRAPA (em Brasília, 13 e 14 de outubro de 2008). Segundo aquela pesquisadora, apenas uma pequena parcela dos impactos da inserção, sobre o universo de rotas metabólicas, pode ser acompanhada com os métodos e tecnologias atuais. Os prazos, os custos e a abrangência incluem-se entre as razões. No caso deste dossiê, são evidentes as lacunas envolvendo questões não respondidas pelos escassos estudos disponibilizados à avaliação da CTNBio.

Dentre estas lacunas cabe referir, por exemplo, estudos de Dolezel *et al.* (2005 e 2006) e Domingo (2007). Estes são alguns dos muitos autores que discutem casos envolvendo eventos originalmente apresentados como seguros, a exemplo do que ocorre com o TC1507, mas que, posteriormente à liberação comercial, revelaram facetas inesperadas e contraditórias em relação àquele pressuposto. Também cabe, entre os exemplos interessantes, considerar o caso do milho MON810. Recentemente liberado para plantio comercial no Brasil, este mesmo milho, em razão do

acúmulo de novas evidências científicas, teve seu cultivo proibido na Hungria, na Áustria, na Polônia, na Grécia, na Itália, na Alemanha e na França (ver http://www.developpement-durable.gouv.fr/article.php3?id_article=3848 e links recomendados).

O subdimensionamento dos riscos induz a decisões insuficientemente sustentadas. Isto decorre, de um lado da fragilidade dos sistemas de avaliação, de outro da insuficiência de estudos independentes e, ainda, da sobrevalorização do pressuposto de equivalência substancial.

Há, na verdade, forte contradição entre as muitas afirmativas de que estudos científicos atestam a segurança destes produtos e recente avaliação da bibliografia internacional, cobrindo as publicações científicas da última década. Seu autor (Domingo, 2007) assegura que não há sustentação para a afirmativa de que os produtos geneticamente modificados disponíveis no mercado são seguros, ou que teriam passado por acuradas avaliações de risco. Literalmente, após revisar “a informação científica concernente ao potencial toxicológico de plantas GM/transgênicas”, bem como os estudos “sobre a segurança do uso potencial de batatas, milho, soja, arroz, pepino, tomates, pimenta doce, ervilhas e canola para alimentação humana e animal” Domingo (2007) conclui seu artigo com a mesma pergunta que deu origem à pesquisa, qual seja: “onde estão as evidências científicas mostrando que os alimentos e plantas GM são toxicologicamente seguros?” (Domingo, 2007, p. 721 e p.731).

A insegurança do processo de engenharia genética, utilizando a biobalística, pode ser interpretada a partir de exemplos documentados. No caso do MON 810 apenas 70% do gene intencionado (*cry1Ab*) estaria incorporado ao DNA do milho, e ainda haveria modificação no final do transgene (ver Hernandez et al., 2003 e Holck et al., 2002). Por estas razões, o MON810 se inclui no grupo de casos para os quais já há comprovação científica de deleções e rearranjos nas seqüências inseridas. Ademais, a presença da proteína *Cry1Ab* alterou a expressão de 43 proteínas nativas no MON810 (Zolla et al., 2008).

Ainda para ilustrar o grau de imprecisão com que esta tecnologia opera, podem ser consultados Pawlowski *et al.*, 1998; Hansen e Wright, 1999; Svitashv *et al.*, 2000 e 2002; Latham et al. 2006; Wilson et al., 2004; e Smith *et al.*, 2001. Estes estudos abordam casos onde o método de biobalística provocou a incorporação de várias cópias, ou de parte delas, em vários locos, resultando em evidências de desordenamento no genoma do hospedeiro. Estas circunstâncias evidentemente ampliam os riscos de fenômenos indesejados, como os já mencionados processos de silenciamento ou a sobre-expressão de genes (ver Pinto *et al.*, 1999 ; Shou *et al.*, 2004; Wilson *et al.*, 2004, Latham *et al.*, 2006).

O caso do Milho Liberty Link também constitui exemplo interessante já que, neste caso, segundo a própria empresa detentora da tecnologia, a seqüência inserida na PGM difere em quatro bases daquela presente no plasmídeo de transformação.

Seria, então uma outra seqüência?

No caso do TC1507 o método de transformação confirma sua imprecisão. Conforme mencionado pelos proponentes, o evento de transformação contém, além das seqüências alvo, mais outras 14 seqüências cujas implicações não foram adequadamente estudadas, até o momento (Sumário das Seqüências Inseridas - Tabela 3, p. 46).

Algumas perguntas cruciais, neste ponto, com respeito à insegurança e à imprecisão do método e, portanto, à escassa confiança que se pode ter nos seus resultados, são apresentadas a seguir. Estas questões deveriam ser respondidas anteriormente à tomada de decisão sobre o pedido de liberação comercial.

Quais as implicações das diferenças confirmadas a posteriori, entre a construção genética prevista e a construção genética obtida via biobalística?

Qual a correlação entre os resultados de estudos de curto prazo, citados no dossiê, e efeitos adversos que poderiam ocorrer a longo prazo?

Na presença de tantas incertezas relativas à construção genética, e considerando o artigo 1 da lei 11105 de 24 de março de 2005, cabe à CTNBio determinar a realização de maior número de estudos avaliativos, anteriormente à tomada de decisão neste processo.

Esta opinião é explicitamente reforçada pelos pareceres de Paulo Kageyama, Carmen Silvia Soares Pires e Paulo Brack, incorporados ao processo.

Evitando repetir seus argumentos, vejamos alguns dos elementos presentes no corpo do dossiê, que endossam esta visão:

2 – Quanto à insuficiência de dados apresentados pelo dossiê

2.1 - Na página 73 o dossiê informa que "com base nos estudos de retrocruzamento e de autopolinização **pode-se** chegar a conclusão que ambos os genes cry1F e pat são geneticamente estáveis durante ao menos 6 gerações". O destaque em negrito foi agregado para enfatizar que na perspectiva da empresa solicitante, estamos trabalhando no universo das possibilidades, e não da certeza científica. Neste universo (o das possibilidades) costuma ser aceito que a cautela é necessária, e que a redução da insegurança passa pelo aporte de novas informações. Afinal, com que grau de segurança estamos operando, ao aceitar uma estabilidade que **pode** ocorrer durante 6 gerações?

2.2 – O dossiê também informa que o gene pat inserido no TC1507 é uma versão sintética da seqüência do gene *pat* natural da bactéria *Streptomyces viridochromogenes* (Eckes *et al.*, 1989), e que vários dos testes de toxicidade (mamíferos, organismos aquáticos, peixes, aves,..) utilizaram proteínas Cry1F sintetizadas a partir de sua expressão natural (obtida de *Bacillus thuringiensis* var. *azawai* e da proteína completa Cry1F microbiana, MR872, expressa em *Pseudomonas fluorescens*) ao invés daquela encontrada no milho GM, que está sendo avaliado para fins de liberação comercial.

As proteínas Cry1F sintetizadas em bactérias não têm a mesma seqüência primária das proteínas Cry1F sintetizadas no milho Herculex, exceto para os primeiros 605 amino-ácidos.

Além disto, a proteína sintetizada no Herculex pode ser modificada com adição de fosfatos, N-acetylglucosamine e hexoses, o que pode modificar tanto a conformação da proteína (Ahmad *et al.*, 2006) como suas características funcionais, inclusive no que diz respeito a seu potencial patogênico (Wang *et al.*, 2007; Pang *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2006; Wells *et al.*, 2004; Lüdemann *et al.*, 2005).

A situação é distinta no caso da proteína natural sintetizada em bactérias, que é incapaz de efetuar modificações pós-translacionais (Dennis *et al.*, 2006). As conseqüências de uma modificação na proteína incluem a possibilidade de levar esta proteína a assumir outras funções, com implicações que neste momento não são conhecidas.

Em outras palavras, o relevante aqui é que no caso dos genes Pat e Cry1F incorporados ao evento TC1507, estamos diante de proteínas distintas daquelas comumente encontradas no ambiente, se considerarmos sua condição natural. O parecer de Paulo Kageyama, com o qual concordamos, detalha este argumento.

A propósito, o dr Flávio Zambrone, que dispensa apresentações nesta Comissão, afirmou durante o já referido encontro do ILSI, realizado em outubro de 2008, em resposta a questionamento sobre o uso de proteínas de bactérias para avaliar o impacto de proteínas produzidas no milho GM, que pesquisas deste tipo, se de fato envolverem substâncias diferentes, ou quando existir a possibilidade das substâncias serem diferentes, as comparações não poderiam ser consideradas adequadas. Na ocasião, a confirmação de que não se tratam das mesmas substâncias foi apresentada pelo Dr Earle R. Nestmann (do Cantox Health Sciences International, Canadá). A

justificativa apresentada naquele mesmo encontro, ainda pelo Dr Earle R. Nestmann, para o uso de proteína isolada de bactéria, concentrava-se nos aspectos de custos, na maior dificuldade para isolar a proteína sintetizada na planta, e na relativa facilidade para utilizar a proteína sintetizada em bactérias.

Aparentemente, na visão dos proponentes, a obtenção da proteína que deveria ser efetivamente testada, seria por demais onerosa, o que justificaria a utilização de alternativa mais econômica. No entanto, em nossa interpretação este ponto merece análise mais profunda. Vejamos:

Estudo de Poerschman et al (2005) identificou culturas de milho Bt com concentração de lignina 18% a 28% maiores (nos talos) do que seus isogênicos não GM. Já nos estudos de Saxena e Stotsky (2001), o acréscimo de lignina, associado à incorporação do mesmo transgene (cry1Ab), relativamente a suas isolinhas não GM, oscilou desde + 33% até + 97%. Aqueles autores concluíram, timidamente, que estas modificações no teor de lignina “podem ter implicações ecológicas”. Ora, o fato é que a proteína purificada da bactéria não oferece informações sobre os relacionamentos e sobre os impactos causados pelo transgene em outras rotas metabólicas do milho, que não aquela envolvida com a característica desejada.

E aqui destacamos, a presença de alteração no teor de lignina sugere que a incorporação do efeito inseticida (ou a inserção do gene pat com o cassete de expressão) alterou outras atividades no metabolismo vegetal, e que estas alterações impactarão sobre a vida ativa das proteínas inseticidas no solo, sobre os tempos de degradação e sobre a digestibilidade dos restos culturais.

Como a toxina isolada do milho Herculex não foi testada, existirão outros efeitos pleiotrópicos, que não conhecemos? Seriam necessários mais estudos do que os oferecidos no dossiê, para avaliação desta possibilidade.

Sem isto, o que sabemos é que mesmo estas modificações inesperadas, que ocorrem na planta, e que “podem ter implicações ecológicas” sobre o ambiente, sobre os organismos não alvo, sobre os habitantes do solo e dos sistemas aquáticos, não seriam nem serão identificados em estudos que utilizam as proteínas sintetizadas a partir de sua fonte bacteriana original, para avaliar os impactos que podem ser causados pelas proteínas sintetizadas no evento TC1507.

2.3 - As pesquisas realizadas com as proteínas sintéticas não consideraram o tempo de exposição observado no mundo real ao longo dos vários meses em que as lavouras de milho Herculex estarão se desenvolvendo. Na verdade, o tempo de exposição ao ambiente excederá o ciclo da cultura, pois as proteínas permanecerão ativas no solo várias semanas após a incorporação dos restos culturais. O dossiê informa, literalmente, que “após a incorporação das plantas no solo, não se detectou a presença da proteína Cry1F onde haviam parcelas de milho Cry1F, indicando que cerca de 139 dias do plantio foi suficiente para a proteína cry1F ser **praticamente** degradada na área experimental (p.158, destaque acrescido, referindo-se a EE de Itumbiara, GO). Também segundo o dossiê (p158), a partir de estudos realizados na EE de Toledo (PR, destaque acrescido) “deduz-se que nesta fase, cerca de 169 dias após o plantio, a proteína Cry tenha sido **praticamente** degradada”.

Estas circunstâncias podem ter conexão com observações apresentadas em estudos que relacionam oscilação no tempo de degradação das proteínas, ao tipo de solo onde são incorporadas. Segundo Koskella & Stotzky, 1997; Tapp & Stotzky, 1995a; Tapp & Stotzky, 1998, em áreas argilosas a atividade da proteína tende a se estender no tempo, alcançando até 234 dias. Ora, o dossiê não leva em consideração as diferenças no perfil e na composição dos solos, em suas avaliações do impacto da proteína sobre a biota ali estabelecida.

O dossiê também despreza os impactos do glufosinato de amônio sobre o ambiente, como se a inserção do gene pat, ao permitir modificação metabólica que leva a planta a absorver e acumular aquele herbicida, não acarretasse implicações sobre o ambiente. A este respeito cabe lembrar estudo de Accinelli *et al.* (2004). Sustentando relação direta entre o tempo de persistência de moléculas de glufosinato de amônio e a presença de toxinas da bactéria Bt, no solo, as conclusões daqueles

autores mostram que estudos de impacto ambiental, associados ao milho Herculex, deveriam incorporar o pacote tecnológico como um todo.

Não é o que se verifica no dossiê. Testes, por exemplo, sobre artrópodes, que não foram realizados na presença do glufosinato de amônio, ignoram o fato de que o herbicida altera as comunidades de plantas adventícias, impactando sobre a fauna associada, e que também atinge diretamente alguns organismos não alvo, bem como os sistemas e cadeias em que se inserem.

Ademais, os testes consideram pequenas parcelas, com milho Bt, com milho convencional sem agrotóxico e com milho convencional com agrotóxico. Esta condição permite o livre deslocamento dos organismos entre as parcelas. Nestas condições, o efeito nas grandes lavouras de milho Bt, onde os artrópodes poderiam sofrer uma pressão de seleção adversa, não estão sendo avaliados.

Neste sentido, cabe supor que tais testes examinaram condições distintas da realidade que seria configurada, por ocasião de eventual liberação comercial, resultando pouco adequados para sua avaliação prévia. Assim sendo, o informe não publicado, e portanto não revisado pelos pares (Fernandez, 2006), incorporado entre as p. 106 e 148, não apresenta contribuição científica relevante para avaliação de biossegurança para organismos não alvo, necessária a este processo. Portanto, a CTNBio deve solicitar estudos adicionais para esta decisão de liberação comercial.

2.4 - O dossiê nada informa sobre “possíveis efeitos deletérios do OGM em animais prenhes e seu potencial teratogênico”, contrariando exigência da RN 05.

De fato, as proteínas Cry deveriam ser testadas em acordo com os métodos usados atualmente no domínio da pesquisa sobre as proteínas príons, como injeções intra-craniais (IC) e intra-peritoneais (IP), sobre ratos neonatais, seguidas de observações durante pelo menos 120-300 dias (Liberski & Brown, 2007; Unterberger & Voigtlander, 2007). Cabe ressaltar que, segundo Lewis *et al.* (2006) e Pauli (2005), a realização desses estudos poderia ter prevenido as doenças da “vaca louca” e várias doenças ligadas aos hormônios de crescimento.

Alem disto, a avaliação toxicológica das proteínas Cry, no dossiê, não levou em consideração as pesquisas sobre oncogenes. Testes sobre animais neonatais já estão sendo usados desde muito tempo na oncologia viral e não viral são disponíveis. Esses testes permitiram a descoberta de oncogenes relacionados a vários tipos de câncer em humanos (Gelman *et al.*, 1993; Bonham *et al.*, 1992; Hassan *et al.*, 1990; Darlix *et al.*, 2007).

Estudo de Velimirov & Binter (2008) informa que camundongos alimentados com milho MON810 X NK 603 tiveram sua taxa de reprodução comprometida, apresentando ninhadas menores ou inexistentes.

Já em estudo de Finamore *et al.* (2008), também com camundongos, a alimentação com MON810 comparativamente ao controle provocou alterações na percentagem de células T e B (em camundongos desmamados) e alterações na percentagem de células do sistema imunológico (CD4+ e CD8+, em camundongos idosos). A importância deste estudo decorre da multiplicidade de espécies de mamíferos que vivem nos agroecossistemas onde se cultiva milho no Brasil. Em relação a estes animais nativos não existe qualquer estudo de toxicidade envolvendo o TC1507.

2.5 - O dossiê não informa sobre cuidados tomados em relação aos “agentes polinizadores potenciais” do milho, nem quanto a sua “distribuição geográfica no Brasil”. Preocupação neste sentido foi apresentada no parecer Ad Hoc da Dra Carmen Sílvia Soares Pires, que recomendou maiores estudos “antes da liberação do plantio para grandes áreas”.

Embora o parecer consolidado do Dr Paulo Andrade responda pela empresa as preocupações apresentadas pela Dra Carmen, em relação ao predador *Doru luteipes*, e também quanto aos riscos a que as abelhas estariam expostas em função da especificidade do mecanismo de ação das proteínas Cry, é relevante o fato de que o dossiê em si, contrariamente ao que a RN 05 exige, se mostre omissa a este respeito.

Cabe lembrar neste ponto, estudo de Ramirez-Romero et al. (2008), relativamente a possibilidade de que exposição continuada de abelhas, desde a fase larval até a fase adulta, impacte sobre o sistema cognitivo daqueles insetos, contribuindo para o conjunto de fatores determinante daquele fenômeno conhecido como CCD (Colony Collapse Disorder). Neste ponto, concordamos com os pareceres da Dra Carmen Pires e do Dr Paulo Brack, quando destacam a insuficiência no dossiê de informações a respeito de riscos sobre polinizadores.

2.6- Considerando a reiterada menção ao longo do dossiê e no relatório síntese, quanto à especificidade a proteína Cry1F sobre lepidópteros, cabe mencionar que apenas duas espécies foram monitoradas nos testes apresentados para a CTNBio. Trata-se da *Helicoverpa zea* e da *Spodoptera frugiperda*, aqui consideradas como alvo na medida que podem causar danos importantes para a cultura do milho. Assim, chama atenção o fato de que os estudos disponibilizados desprezam riscos que a tecnologia possa oferecer para Lepidópteros não alvo. Não é irrelevante o fato de que, no Brasil, 57 espécies de Lepidópteros possuam registro no Ministério do Meio Ambiente, como espécies ameaçadas de extinção (MMA, 2008).

Possivelmente o desprezo aos lepidópteros não alvo decorra de sua ausência, em forma larval, na cultura do milho. Assim, tanto as armadilhas adesivas como os pitfalls e as bandejas d'água referidas no estudo, constituem equipamentos inadequados para sua captura. Esta dificuldade simples seria relevante o suficiente para assegurar a ausência de informações, considerando a propalada especificidade da proteína Cry1F sobre Lepidópteros?

Alem disto, cabe ressaltar que num processo de avaliação de risco, a noção de “especificidade” das proteínas Bt sintetizadas em PGM, reiteradamente utilizada como argumento de que os eventos são seguros, deveria ser interpretada na sua conotação ecológica, abrangente, e não naquela perspectiva restrita aos receptores existentes nos insetos alvo. Ou seja, a avaliação de risco deveria acompanhar efeitos letais e subletais, bem como possíveis alterações do *fitness*, do desenvolvimento ou do comportamento das espécies afetadas por essas proteínas. Os estudos deveriam considerar que aqueles efeitos e alterações podem estar ligados ao consumo direto e/ou indireto dessas toxinas, mas também podem resultar de perturbações de outras relações tróficas, envolvendo o parasitismo, a cooperação ou a simbiose.

De fato, não pode ser considerada como “específica” uma toxina que mataria diretamente uma só espécie, mas que poderia afetar, ao mesmo tempo (inclusive de forma letal), várias outras espécies que dependem daquela primeira.

Uma interpretação correta dessa “especificidade” revela-se de grande importância num contexto onde as proteínas Bt estão sintetizadas sobre milhões de hectares e durante vários meses por ano, situação claramente distinta daquela considerada nos tempos de disseminação da toxina pela pulverização de bactérias Bt, no processo de controle biológico.

O artigo 225 da Constituição Federal e os compromissos do Brasil em convenções internacionais, a exemplo da Convenção de Diversidade Biológica exigem que o Governo e a sociedade protejam o patrimônio genético e a biodiversidade. Adicionalmente, o Brasil também assumiu compromissos de reduzir a perda de biodiversidade. Portanto é temerária a decisão de liberação comercial desta toxina sem que se saiba seus efeitos sobre as espécies ameaçadas de extinção acima referidas.

As tabelas a seguir relacionam 34 estudos referindo efeitos negativos sobre insetos não-alvo, alcançados de maneira direta e/ou indireta pelas proteínas Cry. Trata-se, em todos os casos, de estudos que foram publicados em revistas científicas dotadas de *peer review*, e que não são considerados no dossiê.

A observação de que poucos estudos dizem respeito a proteína Cry1F, ao invés de significar, como alguns podem supor, que essa proteína Cry não apresenta impactos sobre Organismos Não Alvo, deve ser interpretada como indicativo da escassez de pesquisas, realizadas com este objetivo, envolvendo estas proteínas.

Espécies Diretamente afetadas, negativamente	Material de teste	Fonte/Estudo
Danaus plexippus	Cry1Ab (polen)	Losey et al., 1999
Danaus plexippus	Cry1Ab (polen)	Jesse & Obrycki, 2000
Papilio polyxenes	Cry1Ab (polen)	Wraight et al., 2000
Danaus plexippus	Cry1Ab, Cry1Ac, Cry9C, Cry1F (polen)	Hellmich et al., 2001
Macrosiphum euphorbiae	Cry3A	Ashouri et al., 2001
Piris brassicae	Cry1Ab (polen)	Felke et al., 2002
Pieris rapae	Cry1Ab (polen)	Felke et al., 2002
Plutella xylostella	Cry1Ab (polen)	Felke et al., 2002
Spodoptera littoralis	Cry1Ab	Dutton et al., 2002
Galleria mellonella	Cry1F	Hanley et al., 2003
Pseudoplusia includes	Cry1Ac	Baur & Boethel, 2003
Danaus plexippus	Cry1Ab	Anderson et al., 2004
Spodoptera littoralis	Cry3Aa	Hussein et al., 2005
Spodoptera littoralis	Cry1Ab	Dutton et al., 2005
Spodoptera littoralis	Cry1Ab	Vojtech et al., 2005
Spodoptera littoralis	Cry3Aa	Hussein et al., 2006
Spodoptera littoralis	Cry1Ab	Dutton et al., 2005
Spodoptera littoralis	Cry1Ab	Vojtech et al., 2005
Spodoptera littoralis	Cry3Aa	Husein et al., 2006
Daphnia magna		Bohn et al., 2008
Inachis io	Cry1Ab	Felke & Langenbruch, 2003, 2004, 2005
Plutella xylostella	Cry1Ab	Felke & Langenbruch, 2003, 2004, 2005
Papilio machanon	Cry1Ab	Lang & Vojtech, 2006
Plodia interpunctella	Cry1Ab	Darvas et al., 2003

Espécies indiretamente afetadas negativamente	Material de Teste	Estudo
Crysosperla carnea (predador)	Cry1Ab	Hilbeck et al., 1998; Méier & hilbeck, 2001; Dutton et al., 2002
Aphidius nigripes (parasitoide)	Cry3A	Ashouri et al., 2001
Porcellio scaber (detritivore)	Cry1Ab	Wandeler et al., 2002
Orius tristicolor (predador)	Cry1Ac	Ponsard et al., 2002
Geocoris punctipes (predador)	Cry1Ac	Ponsard et al., 2002
Cotesia marginiventri (parasitoide)	Cry1Ac	Baur & Boethel, 2003
Copidosoma floridanum (parasitoide)	Cry1Ac	Baur & Boethel, 2003
Phytoseiulus persimilis (predador)	Cry3Bb	Zemková Rovenská et al., 2005
Propylea japonica (predador)	Cry1Ab	Bai et al., 2005
Poecilus cupreus (predador)	Cry1Ab	Meissle et al., 2005
Neoseilus cucumeris (predador)	Cry1Ab (pólen)	Obrist et al., 2006
Lumbricus terrestris (detritivoro)	Cry1Ab	Zwahlen et al., 2003

Cotesia flavipes (parasitoide)	Cry1Ab	Prütz & Dettner, 2004
Tetrastichus howardi (parasitoide)	Cry1Ab	Prütz et al., 2004
Adalia bipunctata (predador)	Cry1Ab, Cry3Bb	Schmidt et al., 2008

Finalmente, cabem referências aos impactos sobre a agricultura familiar, que depende de variedades não GM, e às implicações da expansão de cultivos desta natureza. O parecer de Paulo Brack focaliza este argumento.

No sentido de evitar repetições vejamos, de forma sucinta, alguns estudos complementares aos referidos por Paulo Brack, que endossam suas conclusões. Cordeiro et al. (2008) apontam para a inviabilidade de convivência entre o milho de polinização aberta (milho crioulo e variedades de controle familiar) e os milhos GM, reforçando afirmativas apresentadas em 2001 por Ignácio Chapela (Quist & Chapela, 2001). Embora o artigo tenha sido criticado na época, a própria revista Nature, em sua edição de 13 de outubro de 2008 comenta sobre resultados obtidos por pesquisadores mexicanos confirmando a contaminação (Modified genes spread to local maize, disponível em www.nature.com/news). Resumidamente, o artigo mostra que mesmo em áreas onde o plantio de OGM é proibido, a contaminação por transgenes avança. Esta conclusão, de inevitabilidade da contaminação é prevista por Cordeiro (2008), para os agricultores familiares do sul do Brasil.

Face ao exposto, e considerando:

- Que boa parte dos estudos apresentados no dossiê se apóiam em proteínas sintetizadas em bactérias, que não carregam a totalidade das informações relativas ao conjunto de interações associadas às proteínas incorporadas no Milho Herculex e que, portanto, não permitem sustentar as conclusões pretendidas;
- Que alguns animais utilizados nos testes não estão descritos (a exemplo da pesquisa com peixes) ou não são representativos de nossos biomas (a exemplo da pesquisa com aves), sem haver justificativa para tanto e, portanto, resultam insuficientes para o propósito do dossiê;
- Que o tempo de duração das avaliações com animais não abarca mais de uma geração, nem considera a possibilidade de impactos teratogênicos, como exige a RN05;
- Que os riscos de contaminação das lavouras de milho crioulo, fundamentais para a manutenção de sistemas de produção associados à cultura e modo de vida de agricultores familiares, indígenas e quilombolas, são grandes, tendendo à inevitabilidade e ameaçando a grande maioria dos brasileiros residentes no meio rural;
- Que vários pontos da RN 05 não são atendidos e outros são atendidos de forma insuficiente, como amplamente demonstrado no parecer de Paulo Kageyama

É nossa interpretação que estes motivos, que se somam aos argumentos e recomendações apresentados nos pareceres dos Drs Paulo Brack, Paulo Kageyama e Carmen Silva Soares Pires, são consistentes em seus apontamentos no sentido de recomendação de cautela,

O voto do MDA, que aqui apresentamos, é pela diligência para realização de todos os estudos necessários para responder as perguntas formuladas neste e nos demais pareceres acima citados.

No entendimento de que estes estudos são necessários para tomada de decisão por parte da CTNBio, em atendimento tanto à necessidade do conhecimento científico como ao previsto no artigo 1 da lei 11.105, no caso da CTNBio recusar a diligência para obtenção daquelas informações, o MDA se posiciona e vota pelo indeferimento.

Leonardo Melgarejo
Porto Alegre, 9 de dezembro de 2008.

Bibliografia

- Accinelli, C., Screpanti, C., Vicari, A. & Catizone, P. 2004.** Influence of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* on the degradation of glyphosate and glufosinate-ammonium in soil samples. *Agricult. Ecosyst. Environment* **103**, 497-507.
- Binimelis, Rosa. Coexistence of Plants and Coexistence of Farmers: is an Individual Choice Possible?. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. 2008.
- Bohn T., Primicerio R, Hessen D.O., Traavik T. (2008)** *Reduced Fitness of Daphnia magna Fed a Bt-Transgenic Maize Variety*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 55:584-92.
- Cordeiro, A.P.; Alves, A.C.; Ogliari, J. Challenges, for co-existence in small-scale farming: the case of maize in Brazil.** In: Breckling, B., Reuter, H. & Verhoeven, R. (org.) Implications of GM-crop Cultivation at large Spatial Scales. Theorie in der Ökologie 14. Frankfurt, Peter Lang, p134-139, 2008.
- Dolezel, M., Heissenberger, A. & Gaugitsch, H. 2005.** Ecological effects of genetically modified maize with insect resistance and/or herbicide tolerance. *Forschungsberichte der Sektion IV*. Band 6/2005. Bundesministerium für Gesundheit und Frauen, Sektion IV, Vienna, Austria
- Dolezel *et al.* (2006) **Hernandez *et al.*, 2003.** A specific real time quantitative PCR detection system for event MON810 in maize YieldGard R based on the 3'-transgene integration sequence. *Transgenic Research* 12: 179-189.
- Dolezel. M.; Eckerstorfer, M.; Gaugitsch, H.; Heissenberger, A.; Spök, A. 2006.** Neue wissenschaftliche Erkenntnisse in Bezug auf die Österreichischen Importverbote für die gentechnisch veränderten Maissorten MON 810 und T25. Bundesministerium Für Gesundheit und Frauen – BMGF. Viena, 2006. . (Disponibilizado pelo Greenpeace, em tradução para o português, com o título: Relatório das evidências científicas com s últimas descobertas sobre as medidas de segurança na Áustria para as linhagens de milho geneticamente modificado MON810 e T25.)
- Darvas B., 2003.** Effects of DK-440-BTY (YIELDGARD) *Bt*-corn pollen on *Inachis io* (Nymphalidae) larvae, Béla Darvas Conférence du 26-29 novembre 2003, Prague. Poster de Darvas B., *Institut de Protection des plantes de l'Académie des sciences hongroise*
- Domingo, J.L. 2007. Toxicity Studies of Genetically Modified Plants: A Review of the Published Literature, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47:8, 721 – 733.
- Eckes, P., Vijtewaal, B., Donn, G. 1989.** Synthetic gene confers resistance to the broad spectrum herbicide L-phosphinothricin in plants. *J. Cell. Biochem.* 13D:334.
- EFSA Scientific Report (2005) 27:7-81. Conclusion on the peer review of glufosinate. http://www.efsa.eu.int/science/praper/conclusions/895/praper_ej27_conclusion_glufosinate_en1.pdf
- Fernandes, O. A. **Avaliação do efeito do milho híbrido 30F33 expressando a proteína Cry1F sobre artrópodes não-alvo.** Departamento de Fitossanidade. UNESP, Jaboticabal. Não publicado.
- Finamore, A et al. 2008.** Intestinal and Peripheral Immune Response to MON810 Maize Ingestion in Weaning and Old Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*
- Garcia, M.A. & Altieri, M.A 2005. Transgenic crops: Implications for Biodiversity and Sustainable Agriculture. *Bulletin of Science, Technology & Society*, vol.25, No. 4, August 2005, 335-353.
- Hernandez *et al.*. A specific real-time quantitative PCR detection system for event MON810 in maize YieldGuard based on the 3'-transgene integration sequence. *Transgenic Research* 12: 179-189.2003.

- Holck et al., 2002.** 5'-Nuclease PCR for quantitative event-specific detection of the genetically modified MON810 MaisGard maize. *Eur Food Res Technol* 214: 449-453. 2002.
- Hansen, G. & Wright, M.S. 1999. Recent advances in the transformation of plants. *Trends in plant science* 4, 226-231.
- Hilbeck, A. & Schmidt, J.E.U. 2006.** Another view on Bt proteins – How specific are they and What Else Might They Do? *Biopestic. Int.* 2(1): 1-50.
- Koskella and Stotzky, 1997.** Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3561-3568.
- Latham, J.R., Wilson, A.K. & Steinbrecher, R. 2006. The mutational consequences of plant transformation, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Vol. 2, 2006, pp.1-7. Brighton, UK.
- MMA, 2008.** Nova Lista da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Disponível em <http://www.mma.gov.br/port/sbf/fauna/index.cfm>
- Pawlowski, W.P. & Somers, D.A. 1998. Transgenic DNA integrated into the oat genome is frequently interspersed by host DNA. *PNAS* 95, 12106-12110.
- Pinto, Y.M., Kok, R.A. & Baulcombe, D.C. 1999. Resistance to rice yellow mottle virus (RYMV) in cultivated African rice varieties containing RYMV transgenes. *Nature Biotechnology* 17, 702-707.
- Poerschmann, Juergen; Gathmann, Achim; Augustin, Juergen; Langer, Uwe and Górecki, Tadeusz. Molecular composition of leaves and Stems of Genetically Modified Bt and Near-isogenic Non-Bt Maise- Characterization of Lignini Patterns. *Journal of Environmental Quality*;Sept – oct 2005; 34,5; ProQuest Science Journals
- Ramirez-Romero R.; desneux N. ; Decourtye A. ; Chaffiol A.; Pham-Delégue M.H. (2008) Does CryIAb protein affect learnig performance of the honey bee Apis Mellifera L. (Hymenoptera, Apidae)?** *Ecotoxicol Environ saf.* 70:327-33
- Rosi-Marshall, E. J.; Tank, J.L.; Royer, T.V.; R. Whiles, M.; Evans-White, M.; Chambers, C.; A. Griffiths, N.; Pokelsek, J.; Stephen, M.L. 2007.** Toxins in transgenic crop byproducts may affect headwater stream ecosystems. *PNAS*, v. 104, n.41, p.16204–16208, 2007.
- Saxena, Deepak and Stotzky, G. Bt corn has a higher lignin content than Non-Bt Corn. *American Journal of Botany* 88(9):1704-1706. 2001
- Jung, H.G. and C.C. Scheaffer. Influence of Bt transgenes on Cell Wall lignification and Digestibility of Maize Stover for Silage.. *Crop science* 44:1781-1789 (2004)
- Liberski, P.P. & Brown, P. 2007.** Disease-specific particles without prion protein in prion diseases – phenomenon or epiphenomenon? *Neuropathology and Applied Neurobiology*, Volume 33, Issue 4, 395 - 397.
- Relyea, R.A 2005. The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological Applications*, 15(2):618–627.
- Svitashev, S., Ananiev, E., Pawlowski, W.P. & Somers, D.A. 2001. Association of transgene integration sites with chromosome rearrangements in hexaploid oat. *Theor. Appl. Genet.* 100, 872-880.
- Svitashev, S., Pawlowski, W.P., Makarevitch, I., Plank, D.W. & Somers, D.A. 2002. Complex transgene locus structures implicate multiple mechanisms for plant transgene rearrangement. *The Plant Journal* 32, 433-445.
- Spök A., Hofer, H., Lehner, P., Valenta, R., Stirn, S. & Gaugitsch, H. 2005.** Risk Assessment of GMO Products in the European Union. *Umweltbundesamt Wien*, Band 253.
- Shou, H., Frame, B.R., Whitham, S.A. & Wang, K. 2004. Assessment of transgenic maize events produced by particle bombardment or *Agrobacterium*-mediated transformation. *Molecular Breeding* 13, 201-208.
- Smith, N., Kilpatrick, J.B. & Whitlam, G.C. 2001. Superfluous Transgene Integration in Plants. *Critical Review in Plant Sciences* 20, 215-249.

- Tabashnik, Bruce E; Gassman, Aaron J.; Crowder, David W & Carrière, Yves reply a . Moar, William; Roush, Rick; Shelton, Anthony; Ferré, Juan; MacIntosh, Susan; Leonard, B. Rogers and Abel, Craig. Field-evolved resistance to Bt Toxins. *Nature Biotechnology*. Vol 26 number 10, October 2008
- Tapp and Stotzky, 1995a.** Dot blot enzyme-linked immunosorbent assay for monitoring the fate of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 602-609.
- Tapp and Stotzky, 1995b.** Insecticidal activity of the toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 1786-1790.
- Tapp et Stotzky, 1998, in A.T. Groot et M. Dicke, 2002.** Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. *The Plant J.*, 31, 387-406.
- Theuns, I., Windels, P., De Buck, S., Depicker, A., Van Bockstaele, E. & De Loose, M. 2002. Identification and characterization of T-DNA fingerprinting. *Euphytica* 123, 75-84.
- Unterberger, U. & Voigtländer, T. 2007. The pathogenic mechanisms of prion diseases. *CNS & neurological disorders drug targets*; 6(6): 424-55.**
- Velimirov, A.; Binter, C. Univ. Prof. Jürgen Zentek, **Biological effects of transgenic maize NK 603 X MON 810 fed in long term reproduction studies in mice.** Veterinary Univ. of Vienna, Austria, 2008. <http://www.bmgfj.gv.at/cms/site/standard.html?channel=CH08110&doc=cms1226492832306>
- Wilson, A., Latham, J. & Steinbrecher R. 2004. Genome Scrambling – Myth or Reality? Transformation-Induced Mutations in Transgenic Crop Plants. *EcoNexus Technical Report* – October 2004.
- Zeph, L. 2000. *Nutritional equivalence of Bt Cry1F maize – Poultry feeding study* (Equivalencia nutritiva del evento *Bt Cry1F*. Study number PHI-99-010, an unpublished report by Pioneer Hi-Bred International, Inc.
- Zolla, L. et al. 2008. **Proteomics as a Complementary Tool for Identifying Unintended Side Effects Occurring in Transgenic Maize Seeds As a Result of Genetic Modifications.** *Journal of Proteome Research*, 7: 1850-1861