

Parecer sobre pedido de vistas a processo que trata da dispensa de análise e emissão de parecer para os eventos MON 531 X MON 1445, MON 810 x NK 603 e BT 11 x GA 21.

Leonardo Melgarejo – CTNBio

INTRODUÇÃO

Trata-se de solicitação apoiada no artigo 4º da RN 5 da CTNBio, segundo o qual “A critério da CTNBio, sob consulta, poderão ser dispensadas a análise e a emissão de novo parecer técnico sobre OGMs que contenham mais de um evento, combinados através de melhoramento genético clássico e que já tenham sido previamente aprovados para liberação comercial pela CTNBio”.

Percebe-se que o espírito desta resolução contém o pressuposto forte da inexistência de informações adicionais relevantes, que se oponham aos conhecimentos disponíveis por ocasião daquelas liberações comerciais. Pressupõe, ainda, que não existirão efeitos combinados, de natureza pleiotrópica, sinérgica ou outra, entre os genes isoladamente considerados, objeto daquelas avaliações.

No primeiro caso (pressuposto de inexistência de informações adicionais relevantes) nos confrontamos com o teste da realidade. Este, embora útil, nem sempre oferece segurança. Como os agentes econômicos responsáveis pela expansão da tecnologia costumam responder a expectativas de ganhos no curto prazo, manifestando escassas preocupações com a saúde, o ambiente, a segurança ou mesmo com aspectos sócio-econômicos associados a horizontes mais largos, percebe-se que informações efetivamente relevantes –nestes campos- tendem a ser desprezadas.

Dentre os muitos exemplos, neste caso, podemos considerar os impactos ambientais da chamada “modernização conservadora” da agricultura, bem como as conseqüências do crescimento exponencial no uso de agrotóxicos e mesmo o surgimento de novas características –indesejáveis na medida que mais difícil de serem combatidas- em plantas invasoras das lavouras comerciais, como decorrência da expansão no plantio de OGMs tolerantes a herbicidas totais. Como ilustração pode ser citado Benbrook (2004), que registra uma utilização adicional de 53 mil toneladas de pesticidas nas lavouras transgênicas de soja, milho e algodão cultivadas nos Estados Unidos, entre 1996 e 2004. Aquele autor chama atenção para um comportamento padrão, inerente a esta tecnologia, que explica o porquê de, a uma redução de uso nos primeiros três anos, seguir-se forte expansão nas aplicações, ao longo dos períodos seguintes. Trata-se de queda na eficiência da tecnologia, associada ao descumprimento de recomendações dos fabricantes, por parte dos agricultores. Aplicações desordenadas estimulariam o surgimento –inevitável- de resistências, que levariam à ampliação no uso dos agroquímicos, e assim sucessivamente.

Em termos absolutos, os registros de Benbrook (2004) informam redução efetiva de 9,3 mil toneladas de agroquímicos nas lavouras cultivadas entre 1996 e 1998, seguida de enorme salto (uso adicional de 64,8 mil toneladas) entre 1998 e 2004, resultando -para o conjunto de 9 anos-, numa sobre-utilização da ordem de 53 mil toneladas.

Também as afirmativas de que o crescimento no volume de aplicações seria inócuo, a partir de uma tese de menor toxicidade dos herbicidas não seletivos, revelam-se

equivocadas. Em Benachour e Séralini (2009, p. 97) são apresentadas evidências de que os produtos comerciais a base de glifosato “podem causar danos e mesmo morte celular, para os níveis residuais esperados, em alimentos e rações derivados de grãos tratados com formulações roundup”.

A bibliografia também apresenta argumentos que permitem questionar a performance agrônômica desta tecnologia. Dentre os exemplos, Oplinger et al. (1999) examinando 40 testes de performance conduzidos por universidades norte americanas concluem que a introdução da soja RR, determinou redução média de 6%, na produtividade global. As variedades GM teriam apresentado rendimentos deste 24% inferiores até 9% superiores aos obtidos nas variedades não GM adotadas como referencia.

Aquelas conclusões ressurgem em recente avaliação de amplo espectro sobre os impactos dos conhecimentos agrícolas, da ciência e tecnologia para o desenvolvimento (IAASTD, 2009). Este documento lembra que os resultados apresentados pelos grãos GM oscilam de forma importante, apresentando desde ganhos em alguns lugares, para algumas culturas, até declínio na produtividade, em outros (p.8).

Quanto aos impactos sociais, destacamos os trabalhos de Cordeiro et al., (2008) e de Ferment et al. (2009), apontando para a inviabilidade de convivência entre o milho de polinização aberta (milho crioulo e variedades de controle familiar) e os milhos GM. Reforça-se, assim, afirmativas apresentadas em 2001 por Ignácio Chapela (Quist & Chapela, 2001) denunciando contaminação de milho crioulo em áreas isoladas do México, em que pese a proibição do cultivo de milho GM, naquele país.

Embora aquele artigo tenha sido criticado na época, em sua edição de 13 de outubro de 2008 a própria revista Nature, comenta sobre novos resultados, obtidos por outros pesquisadores mexicanos, confirmando a contaminação (Modified genes spread to local maize, disponível em www.nature.com/news). O alarmante, neste caso, é que os estudos mostram que o avanço da contaminação por transgenes ocorre mesmo em regiões onde é proibido o cultivo de Plantas Geneticamente Modificadas (PGM).

Este fato é alertado por Cordeiro *et al.* (2008), relativamente aos agricultores familiares do sul do Brasil e discutido em Ferment *et al* (2009) desde a perspectiva da ineficácia das normativas propostas pela CTNBio. Apontando para a inevitabilidade da contaminação de culturas tradicionais, com as variedades GM, aqueles autores reiteram resultados obtidos em diversos trabalhos científicos (ver, por exemplo Piñeyro-Nelson *et al.*, 2008).

A propósito do que anteriormente mencionamos como “teste da realidade”, o jornal a Folha de São Paulo (FSP), que se caracteriza pelo apoio à biotecnologia, acaba de publicar (10 de maio de 2009) sua constatação empírica dos achados científicos expostos naqueles artigos: avança a contaminação de lavouras não GM no Paraná. Possivelmente agora que temos o testemunho deste importante periódico, estabelecido a partir de simples visitas a lavouras de agricultores que não adotam a tecnologia, no maior estado produtor de milho deste país, as denúncias e os estudos independentes trazidos a esta Comissão serão recebidos com maior atenção.

Também pode ser interpretado, a partir do relato da FSP, que são inócuas as medidas de prevenção recomendadas pela CTNBio. Percebam o dilema daqueles cidadãos, diante desta evidência simples: o emprego rigoroso das normativas da CTNBio leva, inexoravelmente, à contaminação de suas lavouras. Segundo o teste da realidade, as medidas de segurança definidas pela CTNBio se mostram no mínimo insuficientes para garantir o direito de livre escolha a agricultores que prefiram não adotar a tecnologia.

Examinando implicações sócio-econômicas da expansão da soja GM na Argentina Pengue (2003 e 2004) relata o desaparecimento de 60 mil unidades produtivas entre 1997 e 2000. Para a Argentina como um todo, comparando os períodos 1996/97 com 2001/02, ele contabiliza uma redução de 20%, sendo que na região do Pampa o índice alcançaria 30%, caracterizando uma espécie de reforma agrária às avessas. Uma das explicações, que associa a inadaptação da tecnologia aos pequenos produtores, é reforçada pelo avanço no tamanho mínimo economicamente viável da exploração sojeira. Ali, as unidades economicamente viáveis, em função da escala, teriam saltado de um mínimo de 250 ha para 538 ha.

Estas evidências permitem entender decisão recentemente adotada pela França, que acaba de incorporar à comissão encarregada de avaliações de biossegurança, profissionais das áreas econômica e social, revelando compreensão a respeito da insuficiência dos conhecimentos da área de biologia molecular, para o trato deste tema.

Ademais, também cabe referir a desconsideração com que agentes econômicos obcecados por uma visão de curto prazo costumam tratar de problemas de saúde relacionados ao uso generalizado dos pacotes tecnológicos GM, face aos agroquímicos que lhes são inerentes. Não se trata apenas de que 99,9% dos OGMs liberados comercialmente (FAO, 2004) dependam de tecnologias associadas a genes que asseguram tolerância a herbicidas totais, ou propriedades inseticidas - às plantas-, ou ambos. Ocorre que estes mesmos genes estão implicados no surgimento de novas e mais resistentes espécies concorrentes com as culturas comerciais, determinando necessidade de novas e maiores aplicações de agroquímicos. Este foi um dos motivos que levaram a EMBRAPA, a Federação da Agricultura do RS (FARSUL) e a FEDERARROZ, organizações que até aqui sempre se posicionaram a favor da biotecnologia, a explicitarem seu desejo e argumentos contrários à liberação comercial do arroz LL da Bayer.

Ainda assim, temos que o tal teste da realidade, em que pese suas imperfeições, possibilita a reconsideração de decisões que, com o tempo, se mostram equivocadas. Através dele, em face de novas informações, a sociedade se vê estimulada a corrigir rumos e recomendar mudanças de posturas. É o que ocorre no tema do aquecimento global e é o que poderia acontecer no caso da contaminação com produtos GM, entre outras questões onde a fundamentação é abundante e as decisões pessoais parecem relativamente simples.

Já no segundo caso, onde nos referíamos à emergência de riscos inesperados, decorrentes da potencialização ou do amortecimento de características da planta, em função da presença simultânea de dois ou mais transgenes, a situação é mais complexa. Trata-se, aqui, de tomar decisões com base em hipóteses, e à luz de informações incompletas, sem apoio do teste da realidade.

Em certo sentido é preocupante o fato de que uma decisão dispensando de análise específica eventos combinados que –como tal- ainda não foram objeto de avaliação nas condições nacionais, possa ameaçar a credibilidade da CTNBio, comprometendo a institucionalidade de um serviço crucial para o desenvolvimento do país. A Comissão recebeu e está avaliando uma solicitação de dispensa de avaliação. Aparentemente isto supõe que uma das decisões possíveis dispensaria a CTNBio de sua obrigação legal, no sentido de que todos os eventos devem ser avaliados caso a caso. Os membros deste conselho teriam autoridade e autonomia para tanto?

Supondo que sim, e também que careça de sentido aquela hipótese de que tal decisão pode ameaçar a credibilidade da CTNBio, restaria examinar os argumentos que apóiam este pedido. Eles se sustentariam à luz das informações atualmente disponíveis?

Há consenso nesta Comissão quanto à importância das relações entre o genótipo e o ambiente. Entretanto, parece haver divergência quanto à interpretação de que, na prática, uma decisão de dispensa de avaliações em eventos piramidados negaria o caráter determinante daquela relação, sobre a expressão das características genéticas.

Trata-se de algo surpreendente já que até o público leigo percebe que estas relações levam as plantas a responder, a expressar seu potencial genético de forma distinta, por exemplo, no RS e no CE. A rigor, este é um dos argumentos mais óbvios para a necessidade de pesquisas de campo, nos vários biomas, com antecedência à liberação de produtos GM. Da mesma forma, qualquer estudante de agronomia compreende que, ao inserirmos uma modificação no genoma de uma planta, esta alteração pode determinar impacto sobre as centenas de milhares de vias bioquímicas integradas, envolvendo até 200 mil fitoquímicos atuantes no processo de desenvolvimento daquela planta. E estas possibilidades, que foram reafirmadas Dra Martina Newell McGloughlin (Universidade da Califórnia) na presença de vários membros desta Comissão, 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), logicamente são afetadas pelo ambiente. Aliás, segundo aquela pesquisadora, apenas uma pequena parcela dos impactos da inserção de um transgene, sobre o universo de rotas metabólicas, pode ser acompanhada com os métodos e tecnologias disponíveis.

Obviamente a inserção de dois ou mais transgenes amplia a insegurança em questão. Cada membro desta Comissão deve ter presente este fato, no momento de decidir quanto à eventual dispensa de análises e estudos prévio à liberação comercial de eventos piramidados.

Este é o tema delicado de que trata a análise dos *stacked events*: a utilização de eventos que pretensamente conhecemos, como sustentação para decisões envolvendo eventos que, a rigor, não conhecemos – no mínimo porque são, ou deveriam ser, inéditos em nossos ambientes-. A insuficiência ou mesmo a inexistência de dados científicos apresenta-se como o ponto chave nesta consulta.

Não dispondo de resultados de pesquisas de campo, o que podemos afirmar sobre o impacto que a combinação genética pretendida acarretará, nas relações da nova planta com o ambiente, nos vários biomas e ecossistemas nacionais?

Como antecedente, temos documentação importante relatando dúvidas quanto ao pleno atendimento dos requisitos estabelecidos na RN nº 5 da própria CTNBio, por ocasião da liberação dos eventos singulares. Elas estão expressas nos pareceres divergentes publicados juntamente com as autorizações para liberação comercial dos eventos singulares que compõem estes casos piramidados.

Naturalmente, como sustenta o Dr Alexandre Nepomuceno, em seu parecer sobre esta consulta, decisões no campo dos eventos piramidados – assim como no caso dos eventos singulares - exigem avaliações caso a caso, e estas poderiam determinar necessidade de informações adicionais. Aceitamos esta premissa como absoluta, e

agregamos a ela a necessidade de revisão a argumentos anteriormente rejeitados, para decisão quanto a necessidade –ou não– de novas informações.

Aceitamos também sua consequência óbvia, de que a relevância das informações adicionais tenderia a decrescer na presença de conhecimentos atestando a não ocorrência de danos à saúde humana, animal e ao meio ambiente, nas liberações planejadas ocorridas no Brasil, e nas liberações comerciais em outros países, onde os eventos piramidados já vem sendo plantados. Considerada a hipótese de que as liberações planejadas respondessem às questões ambientais, entenderíamos como procedente a interpretação do Dr Nepomuceno, de que o acúmulo de análises e conhecimentos, poderia, eventualmente, se respaldadas pela legislação em vigor, levar ao ponto onde tais informações se mostrassem suficientemente relevantes e consistentes para sustentar pedido de dispensa de análises adicionais. Entretanto, e infelizmente, este, não parece ser o caso.

Como pretendemos demonstrar a seguir, cabe à CTNBio rejeitar a demanda das empresas MONSANTO e SYNGENTA, exigindo estudos específicos para a liberação comercial de eventos contendo mais de uma inserção gênica, ainda que as mesmas tenham sido liberadas comercialmente, com antecedência, em sua forma isolada, no Brasil, caso específico dos eventos **MON 531 X MON 1445, MON 810 x NK 603 e BT 11 x GA 21.**

Examinemos as duas perspectivas de análise, referidas nesta introdução, iniciando pelas informações relativas aos eventos singulares.

Os eventos isolados

As decisões da CTNBio, por ocasião da liberação dos algodões MON 531, MON 1445 e dos milhos MON 810, NK 603, BT 11 e GA 21 decorreram de decisões por maioria, com base em interpretação dos conhecimentos então disponíveis, que se apoiavam, fundamentalmente, na precisão dos métodos de inserção gênica, na ausência de efeitos pleiotrópicos e na equivalência entre aqueles eventos GM e seus isogênicos não GM. Ainda assim, aquelas decisões jamais foram unânimes. Notadamente se deram –na maior parte dos casos– contrariando convicções dos representantes do Ministério da Saúde, do Ministério do Meio Ambiente, do Ministério do Desenvolvimento Agrário, da Secretaria Presidencial da Pesca e Aqüicultura, e dos representantes da Sociedade Civil em relação a Agricultores Familiares, Consumidores, Meio Ambiente e Saúde.

Estes fatos ilustram claramente que aquelas áreas de conhecimento percebem elementos de insegurança não atendidos pelas informações disponíveis nos processos em questão.

Como reforço a esta interpretação considere-se que as justificativas de voto contra aquelas liberações sustentam, entre outros argumentos, que nem todas as exigências e normativas da CTNBio estariam atendidas, que os processos eram falhos em termos de estudos realizados sob as condições dos biomas brasileiros, insuficientes em termos de sua robustez, extensão temporal e abrangência. Isto alimentaria inseguranças quanto a estabilidade dos transgenes, quanto aos riscos para o ambiente, para organismos não alvo e mesmo para a saúde humana. Aqueles pareceres também chamavam atenção para o fato de que a bibliografia disponível não teria sido adequadamente considerada, que os estudos

independentes seriam escassos e que, notadamente, os processos careceriam de avaliações adicionais para sustentar decisões consistentes com a responsabilidade assumida pela CTNBio.

Em outras palavras, os votos discordantes chamavam atenção para elementos de risco não resolvidos e denunciavam que tais liberações, ao desprezar o princípio da precaução, contrariavam a posição assumida pelo Brasil no Protocolo de Cartagena e na Convenção de Biodiversidade.

Relembrando alguns destes pontos:

O caso do MON 1445- algodão RR

O parecer divergente chamava atenção para pressões no sentido do surgimento de plantas concorrentes resistentes ao glifosato, para os impactos decorrentes da inexorável expansão no uso deste agroquímico e para diferenças não explicadas entre a variedade GM e seu isogênico não GM. Além disso, reclamava da inexistência de avaliações contemplando o impacto dos agroquímicos associados ao pacote tecnológico envolvendo este evento e apontava “necessidade de estudo de impacto ambiental segundo as normas brasileiras”, entre outros aspectos.

O caso do NK 603 - Milho RR 2

O parecer divergente chamava atenção para riscos de empobrecimento do estoque biológico, comprometendo a capacidade de resiliência dos agroecossistemas, para a expansão na resistência aos agroquímicos envolvidos no pacote tecnológico em questão e para a ausência de estudos sobre a dinâmica das comunidades de microorganismos do solo, nos diferentes biomas brasileiros. Também destacava a importância de lacunas de informação, notadamente no que respeita ao número, estabilidade, locais e sítios com presença de insertos, bem como suas implicações. Pedia ainda estudos adicionais envolvendo os efeitos do promotor, os padrões dos insertos e as mutações na proteína codificada e na sequência de regulação, em condições de campo, levando em conta a interação genoma-ambiente. Reclamava da inexistência de avaliações de risco e impacto ambiental, compatíveis com a responsabilidade da decisão, entre outros aspectos.

O caso do BT 11

O parecer divergente chamava atenção para deficiências na caracterização do evento de transformação genética e para a insegurança que isto trazia à decisão de liberação comercial, considerando ainda impactos sobre os sistemas de produção, os valores culturais e mesmo a possibilidade de manutenção de vastos grupos de agricultores, indígenas e outras comunidades que rejeitavam a tecnologia. Também referia a insuficiente demonstração de segurança para o consumo humano e animal, bem como para o meio ambiente, entre outros.

Não deve ser esquecido que a ANVISA também emitiu parecer contrário à liberação do BT11.

O caso do GA 21

Os pareceres divergentes destacavam a insuficiente ou inadequada caracterização do evento, a insegurança quanto à estabilidade do transgene, a ausência de estudos no ambiente nacional, com variedades aqui cultivadas, o descaso ao pacote tecnológico no que tange aos impactos ambientais e as respostas inadequadas ou insuficientes a vários itens exigidos pela RN 5 da CTNBio. Também reiteravam desatendimento de compromisso assumido pelo Brasil, no sentido de respeitar acordos internacionais a exemplo do protocolo de Cartagena e da Conferencia de Biodiversidade, entre outros aspectos.

O caso do MON 810 - milho Guardian

O parecer divergente destacava que a doutrina da equivalência substancial não tem amparo legal ou científico, que o processo era falho em informações (as informações sobre os nucleotídeos inseridos no MON 810, bem como estudos sobre o núcleo inseticida da proteína Cry1Ab não se faziam disponíveis), reclamava a inexistência de análise de risco em nossos ambientes e com variedades nacionais. Destacava que, contrariamente ao exposto, não haveria paralelismo entre o gene encontrado na bactéria e aquele inserido na planta, pois este se revelava ativo o tempo todo, e em todos os tecidos do vegetal. Finalizava destacando o não cumprimento de exigências da CTNBio, pelo demandante, e a inobservância do Princípio de Precaução e do Protocolo de Cartagena, em especial quanto às diretrizes e princípios da análise de risco, entre outros aspectos. Novamente, cabe destacar que a ANVISA também emitiu parecer contrário à liberação deste evento.

No caso específico do evento MON 810, vale lembrar recente decisão do governo alemão, somando-se aos governos da França, Áustria, Grécia, Luxemburgo, Hungria, Itália e Polônia, no sentido de proibir o cultivo do MON 810. A Ministra da Agricultura da Alemanha justificou sua decisão alegando existirem razões legítimas para considerar que o plantio daquele grão constitui "um perigo para o ambiente" (BVL, 2009).

Mesmo se não atribuirmos qualquer validade –para o caso brasileiro– ao conjunto de pareceres divergentes acima referidos, merece atenção o fato de que pelo menos aquele que se refere ao MON 810 é atualizado, na perspectiva da Alemanha, França, Áustria, Grécia, Luxemburgo, Hungria, Itália e Polônia.

Entendendo que a reavaliação de postura –que proíbe o plantio do MON 810 naqueles países– não deva ser desprezada como irrelevante, por esta Comissão, parece evidente que uma combinação do MON 810 com o NK 603 não poderia ser liberada comercialmente no Brasil, sem estudos prévios focalizando as implicações deste evento piramidado sobre nossos biomas.

Estabelecido, desta forma, que as aprovações de liberação comercial para os eventos singulares não foram isentas de dúvidas no Brasil, e que existem casos de reconsideração em escala internacional, e que – além disso– estão surgindo informações que permitem novas interpretações para fatos até então considerados como perfeitamente dominados (casos de pleiotropismo revelando associação entre os transgenes e efeitos inesperados no metabolismo do hospedeiro), examinemos, agora, a demanda sobre os eventos piramidados.

Os eventos piramidados

Iniciando pelo milho Mon810 x NK603

A Monsanto sustenta o seu pedido (de dispensa de análise e emissão de novo parecer técnico para liberação comercial do milho Mon810xNK603) argumentando que as vias metabólicas de que participam os genes inseridos no Mon810 e no NK603 são distintas, que os modos de ação das proteínas geradas -CRY1Ab e EPSPS- não apresentam relação que justifique novas análises, que seus níveis de expressão são reduzidos e que haveriam evidências de uso seguro, o que permitiria sua liberação sem análises adicionais. Parecer conclusivo assinado pelo Dr Paulo Andrade corrobora estas assertivas, sustentando não haver razão teórica para esperar resultados distintos daqueles já conhecidos a partir dos eventos singulares.

Respeitando aquela opinião, nos parece que examinando em detalhe as informações disponibilizadas é possível chegar a conclusão distinta. Vejamos:

- Quanto ao Mon810 e a proteína CRY1Ab

Em que pese o fato deste evento não ser recente (liberado há mais de 14 anos em escala global, e desde 2007 no Brasil), a fundamentação técnica da solicitante se apóia em referências pouco atualizadas, praticamente desconsiderando os avanços da ciência ocorridos desde as primeiras avaliações de risco associadas a este evento. Apenas 3 das referências apresentadas foram produzidas na última década. Duas delas são de 2001 e a terceira (de 2007), corresponde a um relatório do ISAAA, contabilizando o avanço territorial das culturas GM. Dentre as informações que poderiam ser incorporadas à avaliação de eventos envolvendo o MON 810, no que diz respeito à sua construção genética, destacamos:

- Hernandez *et al.* (2003) e Holck *et al.* (2002) identificaram (análise PCR) que o milho MON810 apresenta deleção de uma parte do transgene de interesse (*cry1Ab*) e deleção completa do terminador (T-Nos).
- Rosati *et al.* (2008), identificaram (através de re-sequenciamento de 476 pb na bordadura 3', para além das 598 pb já estudadas por Hernandez *et al.*, 2003), que a inserção do transgene (do Mon810) se deu em sequência genômica com 80% de semelhança de codificação para uma ubiquitina-ligase. Sabe-se que as ubiquitina-ligasas são enzimas importantes para a regulação de várias funções celulares, a exemplo da degradação de proteínas defeituosas. Os mesmos autores também observaram a presença de outras ORF candidatas, sugerindo riscos de expressão de novas toxinas inseticidas "híbridas".
- Zolla *et al.* (2008), em análise proteômica de duas gerações subsequentes (denominadas de T05 e T06) do MON 810, utilizando como controle suas respectivas linhas isogênicas (WT05 e WT06), identificaram alteração em 43 proteínas. Interpretaram esta condição como relacionada ao transgene inserido por

biobalística. Destas 43 proteínas, 14 tiveram sua expressão reduzida, 13 apresentaram sua expressão aumentada, 7 correspondem a produtos novos e 9 deixaram de expressar seus produtos. Os autores ainda verificaram que uma das novas proteínas (SSP 6711) corresponde a 50 kDa gama zeína, cujas propriedades alergênicas são bem conhecidas. Além disso, várias proteínas importantes ao armazenamento de sementes (como globulinas e outras similares às vicilinas expressas no embrião) apresentaram formas truncadas, revelando massas moleculares significativamente menores que as das proteínas nativas. Além da proteína zeína destacada por Zolla *et al.* (2008), relativamente ao MON 810 Kroghsbo *et al.* (2008) também apresentam novas informações relativas a possíveis riscos alergênicos.

- Finamore *et al.* (2008) efetuaram um estudo sub-crônico *in vivo* com ratos alimentados com milho MON 810 durante 30 e 90 dias. Em comparação aos milhos controles (parental e não GM), ratos alimentados com milho MON810 apresentaram diferenças nas porcentagens de células T e B, e das subpopulações de CD4+, CD8+, gama-deltaT e alfa-betaT, respectivamente, no intestino e áreas periféricas. Também foi observado aumento das citocinas IL-6, IL-13, IL-12 e MIP-1beta no soro dos ratos alimentados com o milho MON810. Estes resultados se mostraram especialmente relevantes no caso dos ratos jovens. Nesse contexto, os autores ressaltaram a importância dos tecidos intestinais e periféricos no processo de resposta imune ligado a ingestão de transgênico e a idade do consumidor na avaliação dos riscos imunológicos.

Vejamos agora o argumento de Especificidade das proteínas Cry, presente em todas as solicitações.

A Monsanto resume o modo de ação das proteínas Cry aos receptores específicos com que elas estabelecem ligação.

Embora se trate de interpretação bastante aceita, pesquisas recentes revelem que essa “especificidade” encerra simplificações ousadas. Revisando a literatura científica sobre a especificidade das proteínas Cry, Hilbeck & Schmidt (2006) apontam necessidade de novas análises relativamente à relação toxina-hospedeiro, quanto ao modo de ação da proteína. Como exemplo considere que os estudos de Crickmore (2005) e Jimenez-Juarez *et al.* (2007) informam que a atividade das proteínas Cry não depende unicamente da ligação receptor-proteína, mas também da capacidade desse complexo ser oligomerizado e inserido na membrana intestinal do organismo. Considere, também, que Rodrigo-Simon *et al.* (2006) não observaram receptores específicos para Cry1Ac e Cry1Ab em *Chrysoperla carnea*, enquanto Hilbeck *et al.* (1998b) referem efeitos negativos da proteína sobre aquela espécie. É evidente que estes achados lançam dúvidas sobre a necessidade de fixação da proteína Cry a um receptor específico, para ativação de sua ação inseticida.

Considere-se, ainda, que os estudos de Gomez *et al.* (2006), Pigott & Ellar (2007) e Bravo *et al.* (2007) mencionam a glicosilação do receptor e a presença de proteínas como caderina e aminopeptidase-N na membrana intestinal, como fatores importantes para expressão da atividade biológica da toxina Cry.

Em outras palavras, nos anos recentes multiplicam-se exemplos contradizendo a

especificidade *sensu stricto* adotada na argumentação da solicitante. Temos desde estudos com proteínas Cry3Aa/Bb impactando negativamente sobre alguns lepidópteros (Hussein *et al.*, 2005 e 2006; Deml *et al.*, 1999) além dos coleópteros, como estudos com proteínas Cry1Ab/Ac afetando negativamente alguns coleópteros (Dutton *et al.*, 2002; Schmidt *et al.*, 2009), além dos lepidópteros. Ora, a teoria do receptor específico não exigiria inocuidade da Cry3A sobre lepidópteros, e da Cry1Ab, sobre coleópteros?

Além disto, temos estudos mostrando que as proteínas Cry2A e Cry1Ab7 se revelam ativas para lepidópteros e dípteros, enquanto as proteínas Cry1Ba impactam sobre lepidópteros, coleópteros e dípteros (referencias em Zalunin *et al.*, 2004). De outro lado, temos estudos mostrando que alguns coleópteros não se mostram afetados pelas proteínas Cry3A e Cry3Bb1 (Deml *et al.*, 1999. e Lundgren & Wiedenmann, 2002., respectivamente).

Portanto, revisão atualizada da bibliografia sugere que a noção de especificidade já perdeu sua sustentação nos meios especializados. Além disso, nestas circunstâncias onde a proteína Bt se mostra ativa em toda a planta geneticamente modificada (PGM), durante todo o tempo, e mesmo após encerrado o ciclo da cultura, a avaliação de riscos deve ser interpretada em sua conotação ecológica. Nos referimos aqui à necessidade de atenção para os efeitos sub-letais, bem como para possíveis alterações do *fitness*, do desenvolvimento ou mesmo do comportamento das espécies residentes nos meios afetados pela dispersão destas proteínas. Obviamente tais efeitos e alterações se associam não apenas ao consumo direto e/ou indireto dessas toxinas, mas também a perturbações de relações tróficas envolvendo o parasitismo, a cooperação e a simbiose.

Em outros termos, à luz das informações atuais parece equivocado aceitar como “específica” uma toxina que pretenda afetar diretamente uma só espécie, quando na realidade sua atividade (ainda que teoricamente específica sobre aquela espécie) impactará de forma mais ou menos relevante sobre a teia da vida em que ela se insere.

Assim, o fato da postulante não mencionar pesquisas ou bioensaios ou mesmo avaliações de campo, recentes, que permitam interpretar os impactos causados pela proteína Cry1Ab, sobre Organismos Não Alvo (ONA), sugere –pelo menos- escassa preocupação com o tema. Cabe lembrar, neste ponto, a rejeição do MON 810 na Europa, face a ameaças de danos ambientais (BVL, 2009; EFSA, 2008).

Breve resenha de estudos que também deveriam ser considerados, em discussão atualizada sobre impactos ambientais do MON 810 – e que foram desprezados na presente solicitação- é apresentada a seguir.

Especies diretamente afetadas negativamente	Material de teste	Estudo
<i>Danaus plexippus</i>	Cry1Ab (pólen)	Losey et al., 1999; Jesse & Obrycki, 2000; Stanley-Horn et al., 2001; Zangerl et al., 2001; Felke et al., 2002; Felke & Langenbruch, 2003; Dively et al., 2004
<i>Danaus plexippus</i>	Cry1Ab, Cry1Ac, Cry9C, Cry1F (pólen)	Hellmich et al., 2001
<i>Pieris brassicae</i>	Cry1Ab (pólen)	Felke et al., 2002
<i>Pieris rapae</i>	Cry1Ab (pólen)	Felke et al., 2002
<i>Danaus plexippus</i>	Cry1Ab (anteras)	Anderson et al., 2004 e 2005
<i>Daphnia magna</i>	Cry1Ab (grão)	Bohn et al., 2008
<i>Inachis io</i>	Cry1Ab (pólen)	Felke & Langenbruch, 2003, 2004, 2005
<i>Pseudozizeeria maha</i>	Cry1Ab (pólen)	Shirai & Takahashi, 2005
<i>Papilio machanon</i>	Cry1Ab (pólen)	Lang & Vojtech, 2006
<i>Plodia interpunctella</i>	Cry1Ab (pólen)	Davas et al., 2003

Especies indiretamente afetadas negativamente	Material de teste	Estudo
<i>Chrysoperla carnea</i> (predador)	Cry1Ab	Hilbeck et al., 1998b; Meier & Hilbeck, 2001; Dutton et al., 2002
<i>Porcellio scaber</i> (detritívoro)	Cry1Ab	Wandeler et al., 2002; Escher et al., 2002; Pont & Nentwig, 2005
<i>Copidosoma floridanum</i> (parasitóide)	Cry1Ac	Baur & Boethel, 2003
<i>Propylea japonica</i> (predador)	Cry1Ab	Bai et al., 2005
<i>Poecilus cupreus</i> (predador)	Cry1Ab	Meissle et al., 2005
<i>Neoseiulus cucumeris</i> (predador)	Cry1Ab	Obrist et al., 2006b
<i>Lumbricus terrestris</i> (detritívoro)	Cry1Ab	Zwahlen et al., 2003
<i>Cotesia flavipes</i> (parasitóide)	Cry1Ab	Prütz & Dettner, 2004
<i>Tetrastichus howardi</i> (parasitóide)	Cry1Ab	Prütz et al., 2004
<i>Adalia bipunctata</i> (predador)	Cry1Ab, Cry3Bb (nativas)	Schmidt et al., 2009
<i>Campoletis sonorensis</i> (parasitóide)	Cry1Ab	Meissle et al., 2003
<i>Tetrastichus howardi</i> (hiper-parasitóide)	Cry1Ab	Brinks et al., 2004
<i>Macrocentrus cingulum</i> (parasitóide)	Cry1Ab	Pilcher et al., 2005
Coccinellidae (predador)	Cry1Ab	Schmidt et al., 2004
<i>Popilia japonica</i> (predador)	Cry1Ab/Ac	Zhang et al., 2006

- Quanto ao milho NK603 e proteína EPSPS

As informações apresentadas sobre o NK603 e a proteína EPSPS focalizam o modo de ação da proteína CP4-EPSPS, bem como sua caracterização protéica e cinética, relativamente a outras proteínas EPSPS. Também neste caso (com exceção de alguns dados relativos a digestibilidade da proteína), o documento despreza informações recentemente divulgadas no campo da biossegurança.

Sabe-se, por exemplo, que Séralini *et al.* (2007b) reexaminaram os resultados fornecidos pela Monsanto, no dossiê de pedido de liberação comercial daquele evento obtendo informações novas e impactantes. Para as 1050 comparações realizadas entre grupos de ratos controles (8 grupos de 20 ratos/sexo cada) e testados (2 grupos de 20 ratos/sexo cada), a empresa havia registrado 67 diferenças estatisticamente significativas. Todas elas haviam sido interpretadas como **não biologicamente significativas**. Este conjunto incluía um único teste de segurança alimentar (sub-crônico), realizado no laboratório MSE-N da Monsanto. A análise estatística também havia sido realizada pela empresa, em seu centro de estatística.

A partir dos mesmos dados Séralini *et al.* (2007b) apontam desde fragilidades na metodologia estatística até equívocos na interpretação de seus resultados. Os dados do estudo de alimentação de ratos foram avaliados utilizando ANOVA com um só fator, ao invés de ANOVA duas entradas ou métodos de análise multivariada (como Análise de Componentes Principais, Data Mining ou Manova), mais adequados ao problema em questão. Aqueles pesquisadores também sustentam nova interpretação para os resultados obtidos, notadamente considerando informações relativas a aspectos endocrinológicos e histopatológicos. Recomendam, ainda, recondução daqueles estudos sobre horizonte temporal mais dilatado, com grupos selecionados de forma a objetivar avaliações

consistentes do que parecem ser os dois principais elementos de risco associados ao consumo do milho NK603, quais sejam: a modificação no genoma do milho e o acúmulo de herbicidas a base de glifosato, nas partes comestíveis do milho. Naturalmente, a estas questões devem ser agregadas preocupações quanto aos impactos ambientais deste evento bem como do pacote tecnológico que o acompanha.

Não há dúvidas quanto ao fato de que boa parte dos riscos envolvendo o NK603, para a saúde (humana e animal) e para o meio ambiente, se relaciona ao pacote tecnológico que preconiza expansão no uso de herbicidas totais a base de glifosato. Comparativamente aos cultivos tradicionais percebe-se que esta tecnologia leva ao emprego de diferentes dosagens do agroquímico, em frequências de aplicação não usuais e em diferentes momentos do ciclo da cultura. Sua associação ao MON 810 amplia esta variabilidade, no que tange aos impactos ambientais, trazendo novas condições e portanto novos riscos, o que logicamente deveria exigir novas análises.

A expansão da tecnologia RR vem sendo acompanhada por estudos paralelos, cujos achados não eram disponíveis por ocasião da elaboração do documento submetido à avaliação da CTNBio. Hoje sabemos que o glifosato afeta o sistema neurológico (Colborn, 2006; Kamel & Hoppin, 2004), determina alterações no peso de órgãos relevantes como os rins e o fígado (US. DHHS, 1992), e afeta o teor de fósforo no organismo, com repercussões variadas (US. EPA, 1993). Também são disponíveis estudos tratando de seus efeitos oncogênicos, entre outros. Cabe lembrar, por exemplo, que De Roos *et al.* (2005) identificam associação relevante entre a atividade de aplicação do produto e a incidência de mielomas múltiplos.

Particularmente no caso do Roundup Ready, estudos recentes mostram efeitos adversos do produto comercial (mais do que seu princípio ativo, testado isoladamente) sobre células placentárias e embrionárias humanas (Benachour *et al.*, 2007; Richard *et al.*, 2005; Marc *et al.*, 2002; Sorgan, 2005; Benachour & Séralini, 2008). A toxicidade genética do Roundup também é discutida em Kate *et al.*, 1995; Peluso *et al.*, 1998; Bolognesi *et al.*, 1997; Clements *et al.*, 1997; Lioi *et al.*, 1998. Já outros autores mencionam seu impacto na formação de certos hormônios sexuais (Walsh *et al.*, 2000) e portanto na reprodução de mamíferos (Yousef *et al.*, 1995 e 1996).

Aparentemente este efeito colateral com características de toxicidade genética pode transmitir-se de geração em geração, na forma de problemas associados à má formação dos órgãos durante a embriogênese das fêmeas gestantes e seus fetos (Daruich *et al.*, 2001; Dallegre *et al.*, 2003; Benachour & Séralini, 2008).

Finalmente, temos que além de eficiente como perturbador endócrino, o Roundup Ready também se mostra se intensamente tóxico em casos de ingestão direta, oral e intra-traqueal (Adam *et al.*, 1997), bem como em casos de absorção cutânea (Wester *et al.*, 1996). Estes aspectos merecem cautela especial relativamente à saúde dos trabalhadores e das populações residentes nas áreas de aplicação, a exemplo de comunidades estabelecidas no entorno das lavouras. A este respeito, considere-se o recente escândalo ocorrido na Argentina, e associado ao artigo publicado pelo Dr. Andrés Carrasco, do Laboratorio de Embriología Molecular, da Faculdade de Medicina da Universidade de Buenos Aires (UBA) e do Conselho Nacional de Investigações Científicas e Técnicas (Conicet) (ver <http://www.pagina12.com.ar/diario/elpais/1-123111-2009-04-13.html>). A principal conclusão do estudo em questão, que examina herbicidas comerciais a base de glifosato é

de que “o agrotóxico básico da indústria sojeira produz malformações neuronais, intestinais e cardíacas, mesmo em doses muito inferiores as utilizadas na agricultura. O estudo realizado com embriões é o primeiro de seu tipo e refuta a suposta inocuidade do herbicida”¹.

Talvez as duas consequências mais divulgadas deste estudo digam respeito à uma ampla campanha intencionando difamar seu autor, e à proibição do plantio de soja resistente ao glifosato em áreas pertencentes ao ministério da defesa daquele país.

Diante de todas estas informações, se torna difícil aceitar a afirmativa de que o glifosato “contribui para uma baixa toxicidade para outros organismos [além das plantas] e uma maior segurança desse produto”, como consta na página 5 da Carta Consulta sobre o Milho Mon810xNK603. Aliás, a afirmativa da empresa parece mais ajustada às suas campanhas de marketing do que à instrumentalização de decisões da CTNBio.

- Quanto às Proteínas CRY e EPSPS, bem como seu modo de ação.

Conforme já referido, novas informações trazem dúvidas quanto ao modo de ação das proteínas CRY. Também se sabe que o glifosato não impacta somente sobre a via biossintética de aminoácidos aromáticos. Ele também interfere, por exemplo, sobre enzima envolvida no metabolismo do açúcar na cana de açúcar, e que pode inibir importante enzima de detoxificação em plantas (citocromo P450, como descrito em Lamb *et al.*, 1998).

Também se sabe que interferências das proteínas GM sobre outras características das plantas podem passar despercebidas, desde que estas não impactem sobre a tecnologia em si. Mas isto não impede que tais interferências ocorram, nem reduz a importância dos efeitos sinérgicos e pleiotrópicos. De outro lado, permite ilustrar o fato de que existem elementos de insegurança no processo de transgenia, e que os efeitos sinérgicos podem se manifestar para além do vegetal modificado, estabelecendo conexões ao longo dos sistemas de que ele participa, incluindo aí interações bioquímicas no solo.

Exemplifiquemos com estudo de Accinelli *et al.* (2004). Aqueles autores constataram que a presença de toxinas da bactéria *Bt* -no solo- favorecem a persistência do glufosinato de amônio e do glifosato -nesse mesmo solo-. Como decorrência, organismos não-alvo (ONA) sensíveis aos herbicidas totais, presentes na biota do solo, enfrentam situação de desequilíbrio na presença desta tecnologia. Em vista disso, ampliação na presença de OGMs contendo proteína Bt torna necessária a elaboração de estudos ainda não disponíveis, examinando os riscos para aqueles ONA, no médio e longo prazo. Neste sentido a dispensa de estudos para a liberação de eventos piramidados, incorporando proteínas CRY, constitui risco ambiental não negligenciável.

Quanto à inexistência de riscos interativos pelo fato da proteína CP4 EPSPS ser direcionada ao cloroplasto enquanto a proteína CRY1Ab se acumula no citoplasma

¹ “el agrotóxico básico de la industria sojera produce malformaciones neuronales, intestinales y cardíacas, aun en dosis muy inferiores a las utilizadas en agricultura. El estudio, realizado en embriones, es el primero en su tipo y refuta la supuesta inocuidad del herbicida”

O fato das duas proteínas serem direcionadas a compartimentos celulares distintos seria suficiente, como alegam os proponentes e defende o parecer conclusivo de Paulo Andrade, para assegurar inexistência de interações **indiretas**, entre elas?

Não é o que sugerem Zolla *et al.* (2008).

Analisando diferenças de proteínas entre uma variedade de Mon810 e o seu isogênico não GM, aqueles autores constataam 43 casos de alterações relevantes. Trata-se, segundo eles, de proteínas reguladas de forma distinta nos dois tipos de milho, sendo que algumas delas correspondem a proteínas do cloroplasto (como a glutationala peroxidase e a ferritina, ligadas a respostas ao estresse), pelo menos uma ligada a processos de biossíntese (a granule-bound starch sintase 1) e várias envolvidas em diferentes vias metabólicas.

Portanto, com a inserção de uma seqüência genômica codificando para uma proteína ativa no citoplasma (a CRY1Ab) observa-se alteração em várias proteínas do cloroplasto.

Isto não comprometeria o pressuposto de isolamento e independência compartimentais?

A resposta exige novos estudos.

Como a solicitante não costuma disponibilizar os dados originais, e como estes são necessários para comprovação da assertiva –forte- de que a proteína CP4 EPSPS não apresentará interações com as proteínas alteradas do cloroplasto, acima mencionadas, resta a hipótese de que tais interações –indiretas- são possíveis.

Ademais, face a escassez de informações, ignora-se outras proteínas –do citoplasma ou do cloroplasto- que possam ter sido afetadas durante o processo de transgenia, no caso do NK603. Os dados referem-se apenas à CP4 EPSPS, e neste sentido são insuficientes para avaliar inexistência de alterações. Tal afirmativa exigiria, pelo menos, uma análise proteômica comparando o NK603 com seu isogênico.

Mais uma vez, depreende-se que as incertezas tendem a crescer em se tratando do evento piramidado NK603xMON810. Na verdade, levando-se em conta o atual nível de conhecimento sobre este evento, a aceitação da afirmativa de que apenas as proteínas CP4 EPSPS e CRY1Ab apresentam diferenças entre os produtos GM e seus isogênicos, parece quase temerária.

Quanto ao histórico de uso

Se é verdade que os riscos ligados ao consumo em grande escala, dos milhos Mon810, NK603 e Mon810xNK603, não foram comprovados, não é menos verdadeiro que sua ausência também ainda não foi demonstrada. Neste sentido, a afirmativa de que esses milhos GM apresentam um longo histórico de uso seguro não é mais consistente do que a hipótese que associa reduções na esperança de vida, aumento nos casos de multi-alergias, expansão nos casos de obesidade e de diabetes insulino-dependentes ou mesmo a redução na fertilidade masculina nos EUA, nestes últimos 10 anos, ao consumo desses milhos GM.

O relevante, neste caso, não se trata da ausência de observações de danos à saúde animal e humana, mas sim da inexistência de estudos epidemiológicos que os averigüe. Cabe, aqui, referir artigo de Domingo (2000). Examinando a bibliografia disponível sobre a segurança dos produtos GM, aquele autor conclui pela quase absoluta inexistência de informações a este respeito, nas bases de dados especializadas. Objetivamente, em suas palavras, “...um dos resultados mais surpreendentes da pesquisa se associa a ausência de citações de estudos realizados pelas empresas de biotecnologia. Se, como eu assumi, a

segurança e toxicidade dos alimentos GM é avaliada pelas empresas, porque seus resultados não estão oferecidos para avaliação da sociedade científica internacional....?”

Entende-se claramente como a preocupação de Domingo (2000) nos alcança, nesse caso: na ausência de pesquisas atestando a inocuidade de produtos GM para a saúde humana e animal, como posicionar-se em relação aos riscos de longo prazo? Na inexistência de informações para os casos singulares o que justificaria ampliar sua expansão, autorizando –sem avaliações adicionais- a liberação comercial dos eventos compostos?

Relativamente à piramidação MON 810 x NK603, o único estudo de longo prazo atualmente disponível apresenta resultados alarmantes. Trata-se de avaliação com ratos, realizado por Velirimov & Binter (2008). Seus resultados para o teste RACB (Reproductive Assessment by Continuous Breeding), comparando grupos de ratos alimentados com o MON 810 x NK603 e com uma isolinha não GM, mostram que de 24 pares (casais) de ratos alocadas no grupo controle, todas as fêmeas procriaram 4 vezes. Já no grupo teste (alimentado com o GM piramidado), apenas 20 fêmeas procriaram 4 vezes. Além disto, o número médio de filhos nascidos foi sempre menor no grupo de fêmeas alimentadas com o milho GM piramidado (embora até a terceira procriação esta diferença não tenha se revelado estatisticamente significativa). Os autores também afirmam que as fêmeas tratadas com milho GM sempre procriaram filhos de menor tamanho, comparativamente aqueles nascidos de fêmeas alimentadas com milho de isolinhas não transgênicas.

A refutação destes argumentos exigiria novos estudos, o que nos coloca, novamente, diante da reiterada pergunta de Domingo (2007): “onde estão as evidências científicas mostrando que as plantas/alimentos GM são toxicologicamente seguros?”. Ainda que óbvio, cumpre lembrar, diante da necessidade de novos estudos, a CTNBio é chamada a deliberar –neste caso- pela dispensa de estudos.

Também desde um ponto de vista estritamente ambiental, em que pese a abundância de liberações planejadas, e mesmo considerando o tão propalado histórico de segurança em outros ambientes, há que destacar: **não são disponíveis resultados de monitoramento de campo, pós-liberação comercial, de OGMs com genes estaqueados.**

Pleiotropia e interações entre os OGM e o meio ambiente

Na fundamentação técnica apresentada pelas demandantes não foram considerados possíveis efeitos pleiotrópicos nem eventuais interações entre o genoma modificado e as condições ambientais.

Despreza-se, desta forma, a informação de que a atividade do promotor CaMv 35S responde a condições ambientais (Tsfaye *et al.*, 2001), e de que ele pode ser sensível a oscilações no fotoperíodo e na temperatura (Schnurr & Guerra, 2000), determinando variações na expressão do transgene segundo o lugar e a época de plantio.

Despreza-se, também, a informação de que muitas proteínas apresentam diferenças de regulação em função do ambiente de cultivo (Zolla *et al.*, 2008, observaram esta situação para 100 proteínas avaliando milhos WT05 vs WT06, cultivados experimentalmente na Espanha e Itália).

A relação com o meio é claramente desprezada no caso do GA21. Para este evento, todas as pesquisas de campo que sustentaram o pedido de liberação comercial no Brasil, foram realizadas nos Estados Unidos. E mesmo lá, as variedades estudadas apresentaram respostas condicionadas ao ambiente, o que corrobora a conclusão de Zolla et al (2008), no sentido de que as PGMs devem ser avaliadas nas condições ambientais onde serão difundidas.

Em face destes argumentos, parece evidente que os eventos piramidados devam ser examinados a partir de conhecimentos consolidados, envolvendo sua caracterização molecular e genética, considerando os transgenes e outros componentes dos cassetes de expressão, e envolvendo instrumentos de biologia molecular a exemplo de reações PCR. Também há necessidade de caracterização dos produtos de expressão, utilizando técnicas de western e northern blot, entre outros, bem como testes e estudos de campo, em condições ambientais brasileiras.

Outros estudos mostram que alguns tipos de milho geneticamente modificado apresentam uma taxa de lignina superior a seus isogênicos (Masoero *et al.*, 1999; Poerschmann *et al.*, 2005; Flores *et al.*, 2005; Saxena & Stotzky, 2001; Escher *et al.*, 2000). Interpreta-se este fenômeno como possível efeito pleiotrópico relacionado à inserção do transgene. Exemplificando com estudo de Saxena & Stotzky (2001): a comparação entre 10 híbridos de milho GM e não GM, revelou taxas de lignina 33 a 97 % superior nas plantas Bt, em relação aos seus isogênicos.

É razoável supor que uma maior taxa de lignina implicará em maior tempo de decomposição dos restos das lavouras de milho, com extensão do período de atividade da proteína inseticida, no solo. Parece evidente que os impactos desta circunstância, sobre as comunidades de organismos decompositores e suas redes tróficas será distinto daquele observado em culturas não GM.

Em consequência, complexifica-se a avaliação de respostas das comunidades de organismos decompositores, visto que haverá – no tempo- um maior volume de matéria orgânica a decompor, cuja qualidade será inferior dado que a lignina apresenta menor potencial nutritivo para decompositores não especializados (como larvas de borrachudos). De um outro lado, as proteínas Bt ficarão ativas por mais tempo, protegidas da degradação biológica por ligações fortes com as fibras de ligninas (Poerschmann & Kopinke, 2001; Stotzky, 2000b), o que potencializará os riscos a que se submetem os ONAs daqueles ambientes.

Portanto, considerando a biota do solo, há necessidade de estudos aplicados à avaliação de possíveis efeitos pleiotrópicos relacionados aos transgenes, seja em sua condição isolada, seja nos eventos piramidados. No exemplo da relação proteína Bt-lignina percebe-se como pode ser amplo o leque das implicações: um maior teor de lignina pode, por exemplo, comprometer a digestão e a assimilação desse milho pelos ruminantes, estender o período de decomposição dos resíduos culturais (Hopkins et al., 2001) com possíveis impactos sobre a micro biota do solo e afetar o balanceamento e padronização de rações, entre outros.

Neste sentido, admitir desnecessariedade de avaliação de risco para eventos piramidados equivale a negar interações existentes entre as plantas, o meio ambiente e os vários tipos de manejo das lavouras. Merece destaque, neste ponto, a premissa elementar da

pleiotropia: os efeitos pleiotrópico constituem, em princípio, resultados não esperados de uma alteração genética. Nesta condição, apenas com análises objetivas será possível concluir que o uso simultâneo de transgenes distintos apresenta -ou não - algum tipo de efeito sinérgico.

Em que pese a necessidade de estudos caso a caso, a CTNBio revela sabedoria ao propor discussão conjunta dos eventos **MON 531 X MON 1445, MON 810 x NK 603 e BT 11 x GA 21**, porque todos eles se referem à inserção de transgenes que combinam o efeito de resistência a insetos do gênero lepidóptera ao efeito de tolerância a herbicidas totais a base de glifosato. Neste sentido, os impactos dos pacotes tecnológicos em questão se mostram potencializados de forma relevante, e a eventual liberação destes eventos piramidados –com ou sem avaliações prévias- trará implicações sobre a saúde humana e animal, bem como sobre o ambiente, aguçando tendência já consolidada para toda a América Latina (a este respeito, ver Manzur *et al.*, 2009). A nosso ver, tanto a disponibilidade de conhecimentos atualizados a este respeito como o desprezo a estas informações, nos atuais pedidos de liberação de análise, conferem validade à sua avaliação conjunta.

Antes das conclusões, vejamos mais alguns pontos relativamente à consistência dos argumentos apresentados pelos solicitantes:

Para dispensa de análise e emissão de novo parecer técnico relativamente ao algodão MON 531 x MON 1445, a MONSANTO informa que no caso do MON 531 “o gene cry1Ac inteiro introduzido no vetor PV-GHBK04 utilizado na transformação genética codifica uma proteína 99,4% **idêntica** à proteína Cry1Ac que é encontrada na natureza”.

Ora, esta "semelhança" implica em tantas diferenças que não seria possível aceitar a expressão “**identidade**”, que exige precisão alheia a este caso. Como ilustração, lembremos que a similaridade entre os genomas de humanos e outros primatas é da ordem de 98% (De La cruz e Davies, 2000) e que a diferença de 2% nos permite estar aqui, discutindo este tema. A propósito, esta diferença não parece associada ao acúmulo milenar de mutações gradativas, mas sim a transferências horizontais seguidas de recombinações, a exemplo do ocorrido no padrão de metilação de alguns genes expressos no cérebro, cuja modificação aparentemente singela determina alterações cruciais no fenótipo, a partir dos mesmos genes.

A preocupação quanto aos possíveis impactos da diferença de 0,6% cresce quando se percebe outro argumento utilizado pela Monsanto, na justificativa para dispensa de análises do MON 810 x NK603. Apoiada em estudo (Rajamohhan et al., 1995) a empresa afirma que alterações em um único aminoácido do domínio II da proteína Cry1Ab podem resultar em enorme redução da toxicidade para lepidópteros, mesmo se a ligação do receptor permanecer inalterada. Ora, este reconhecimento de que pequenas alterações podem acarretar enormes impactos, de natureza imprevista, não reforça nossos argumentos quanto a necessidade de novos estudos?

Como afirma documento recentemente elaborado por 400 especialistas em temas associados ao conhecimento, ciência e tecnologia para o desenvolvimento, publicado com apoio da FAO, UNESCO e Banco Mundial, endossado na totalidade por 58 nações (IAASTD, 2009), apesar da biotecnologia vir apresentando “rápidas mudanças em numerosos domínios, existem significativas lacunas de transparência e comunicação entre

os atores...(...)...e (...) em que pese o vasto campo de perspectivas..(...)... muitos dos riscos associados a biotecnologia permanecem desconhecidos” (p.4). O documento recomenda cautela com a ênfase atribuída à moderna biotecnologia sem um adequado suporte a outros tipos de pesquisa para a agricultura, e destaca que o uso de patentes para transgenes introduz elementos adicionais..(...)... elevação nos custos, restrições à experimentação, ameaça à práticas tradicionais e comprometimento da segurança alimentar, limitação de possibilidades de pesquisas independentes, surgimento de novos problemas, perda de certificação e de mercados para produtos orgânicos, entre outros. O documento conclui, neste item, pela necessidade de uma abordagem onde a pesquisa e o desenvolvimento da biotecnologia se faça apoiada por processos transparentes, fortalecendo e preservando conhecimentos e valores locais, bem como enfatizando a participação e a agroecologia.

O mesmo documento aponta que problemas de saúde decorrentes da má nutrição (casos de subnutrição e obesidade) associam-se à globalização de mercados e à concentração de poder econômico em poucas empresas, notadamente das áreas de processamento e distribuição. Refere ainda casos de países em necessidade de ajuda alimentar que rejeitam doações de commodities contaminadas, e destaca o surgimento e a reemergência de doenças infecciosas de largo espectro, enfatizando aquelas decorrentes da intensificação das explorações pecuárias.

Este ponto se relaciona à discussão que vínhamos desenvolvendo a partir da diferença de 0,6% observada na proteína Cry1Ac codificada no MON 531, relativamente àquela encontrada na natureza. De um lado, podemos considerar que esta diferença implica se tratar de outra proteína, o que retira validade às conclusões obtidas sobre esta (codificada no milho GM), em função de estudos realizados a partir daquela (proteínas purificadas, extraídas da bactéria). De outro lado, sabemos de doenças como a da vaca louca, que ocorrem em função de alteração no dobramento, na configuração espacial de uma proteína 100% idêntica, no que tange a seqüência de aminoácidos a outra, que não causa problemas.

Enfim, o documento do IAASTD, referendado na íntegra pelo Brasil e mais 58 países, publicado com apoio do BIRD e da FAO, associa riscos e crises do presente, bem como ameaças ao futuro, a produtos alimentares de baixa qualidade, cuja densidade nutricional é discutível, onde a presença de resíduos de pesticidas e aditivos estaria a exigir novas políticas de educação alimentar, vigilância, monitoramento e responsabilização, bem como novas análises e experimentações considerando impactos de longo prazo. Claramente, esta perspectiva contraria a demanda das empresas, no sentido de dispensa de estudos e análises para liberação comercial de eventos piramidados ainda não avaliados de forma específica e abrangente, caso a caso.

Em abordagem mais cautelosa, partindo do pressuposto que a proteína Cry1Ac codificada no MON531 é realmente 99,4% idêntica àquela encontrada na natureza, e assumindo a hipótese de que esta “identidade” se refere a homologia na seqüência de nucleotídeos, caberiam as seguintes questões:

- A diferença de 0,6% se refere a que tipo de modificação? Seriam casos de deleção, de mutação, de introgressão? Seriam combinações destes casos? Estas circunstâncias não implicariam em riscos associados à possível produção de novas proteínas? Esta possibilidade, sustentada pelo texto da demandante, não deveria implicar em determinação, por parte da CTNBio, de novos estudos? Isto não contraria frontalmente

o pedido de isenção de estudos pra liberação comercial deste evento, agora em condição piramidada?

- Sabe-se que as modificações pós-traducionais podem variar entre as espécies, os tecidos, o período do desenvolvimento e mesmo em função do tempo de síntese da proteína. Sabe-se que esta variabilidade permite mistura de proteínas isoformas, co-existindo em um mesmo organismo ou em uma mesma célula (ver [Van den Steen, P. et al., 1998](#); [Küster, B. et al., 2001](#)). Enfim, sabe-se que uma mesma proteína expressa em diferentes organismos pode sofrer diferentes modificações pós-traducionais determinando diferenças estruturais biologicamente significativas, e que outras modificações não mutuamente excludentes são comuns em organismos eucariotos, incluindo modificações com adições de outros grupos funcionais (ex: fosforilação, metilação, acetilação, etc.), adição de outras proteínas e peptídeos (ex: ubiquitinação, etc.), mudança na natureza química dos aminoácidos (ex: deamidação, etc.) e aquelas que envolvem mudanças estruturais da proteína (ex: clivagens proteolíticas e pontes di-sulfeto). Nesta perspectiva, uma simples avaliação da seqüência de nucleotídeos poderia ser aceita como suficiente, para interpretação do funcionamento e da estrutura protéica?

Conclusão

À luz da argumentação anterior, tendo em vista a desatualização das fundamentações técnicas apresentadas tanto pela MONSANTO quanto pela SYNGENTA (desconsideração as pesquisas recentes, ausência de contra argumentação científica em relação aos estudos de Zolla *et al.*, 2008; Finamore *et al.*, 2008; Hilbeck & Schmidt, 2006; Velirimov & Binter, 2008; Schmidt *et al.*, 2009; Séralini *et al.*, 2007b; Rosati *et al.*, 2008; Hernandez *et al.*, 2003, entre outros), dado o desprezo a possíveis efeitos pleiotrópicos e, principalmente, tendo em vista o descaso quanto a interações entre os genomas e o meio ambiente, é decisão desse relator pronunciar-se pelo INDEFERIMENTO do pedido como um todo, bem como de cada um dos casos específicos que o compõe.

Entre os argumentos destacam-se informações recentes associadas aos eventos singulares, bem como o entendimento de que os eventos piramidados merecem avaliação de risco completa, que atenda aspectos de saúde humana e animal e ambiental, tendo em vista, ainda, que as avaliações caso a caso se incluem entre as responsabilidades da CTNBio

Também é entendimento deste relator que os aspectos econômico sociais não devem ser desprezados quando se decide sobre a expansão de tecnologias que exercem pressão negativa sobre a agricultura familiar, que não dispõe de instrumentos para acessar a escala mínima viável exigida pelos pacotes tecnológicos em questão. Não é irrelevante, na perspectiva deste parecerista, que os eventos GA21, NK603, MON 531 e MON1445 tenham sido liberados comercialmente sem avaliação destes riscos de natureza sócio-econômica, por parte do CNBS.

Não menos importantes são os impactos ambientais inerentes à expansão nas áreas cultivadas com estes OGMs. Neste sentido, cabe reafirmar os alertas apresentados nos votos divergentes, por ocasião das análises dos eventos singulares, destacando que, no caso do MON 810, diversos países reconsideraram suas decisões originais, proibindo o plantio.

Este fato, por si só, não estaria sugerindo a forte inadequação de uma decisão que permita expansão de seu plantio –agora em uma forma inédita e talvez agravada em função dos riscos de sinergia e pleiotropismo- , no Brasil, sem estudos adicionais?.

Cabe ressaltar que as avaliações de risco apresentadas para os eventos já liberados comercialmente baseavam-se em hipóteses ainda não confirmadas (“é altamente provável que”, “a fauna não deveria ser danificada”, “a PGM não deveria apresentar riscos para a saúde”...), e que aglutinar as incertezas ali estabelecidas resulta em potencialização dos riscos envolvidos. Nesta perspectiva, a suspensão de avaliação de risco para os eventos piramidados se apresenta como grave ofensa ao Princípio da Precaução previsto no artigo primeiro da Lei n 11.105/05. Trata-se, portanto, de reafirmar ou contrariar a posição assumida pelo Brasil no Protocolo de Cartagena e na Convenção de Biodiversidade.

Cabe ressaltar: em nossa interpretação, a aprovação de liberação comercial para eventos piramidados, sem avaliações específicas, traduziria desprezo da CTNBio ao Anexo III do Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança, que condiciona tomada de decisão reativa à OGMs à avaliações de risco, caso a caso. Esta situação, se levada a termo, colocará em risco a credibilidade desta importante Comissão.

Destaque-se: tendo em vista os pareceres divergentes, é possível afirmar que os eventos até aqui liberados para uso comercial não atendem por completo as normativas previstas na RN n° 5 da CTNBio. Nestas circunstâncias, a aprovação de eventos inéditos – sem aquelas informações para os casos singulares que os compõem - e sem análises objetivas da nova condição proposta pela piramidação, sugere tão amplo desprezo aos riscos que excede qualquer noção de ingenuidade.

Nesta temática dos eventos piramidados, mesmo a EFSA (Agencia Européia da Segurança Alimentar), que sempre foi favorável a liberação comercial de transgênicos, recomenda avaliações de risco específicas, caso a caso² (EFSA, 2007). Efetivamente, em consulta aos estados membros quanto à necessidade de informações adicionais para avaliação de risco em eventos piramidados, alguns aspectos têm surgido como consensuais. Entre estes, destaca-se a necessidade de:

- caracterização molecular visando confirmar a preservação das características do inserto e mapear homologia entre os parentes GM e o evento piramidado;
- comparação analítica do evento piramidado, levando em conta um grupo standard de parâmetros composicionais e agrônômicos
- análise de interações potenciais entre as características incorporadas ao evento piramidado

De outro lado, também têm surgido controvérsias importantes. Entre estas, que em nossa interpretação apenas reforçam a tese de que são necessárias novas pesquisas, destacam-se as seguintes perguntas:

-Os métodos utilizados na caracterização molecular são suficientemente precisos?

² Na União Européia todos os eventos (incluindo casos de piramidação) são avaliados sob o regulamento (EC) n° 1829/43. Em 2006 a EFSA iniciou consulta para construir documento específico relativo aos eventos piramidados. Atualmente alguns membros da UE já medem o surgimento de efeitos pleiotrópicos – e não perceptíveis – nos eventos parentes de eventos piramidados (Spök et al., 2007).

- As interações potenciais entre as características transgênicas podem ser avaliadas com o instrumental disponível? Caso positivo, isto se dá em todos os níveis? (considera os aspectos genético, protéico e metabólico, bem como seus desdobramentos ambientais?)

Portanto, dado que não existem estudos ou pesquisas comprovando similaridade de riscos para os casos de eventos singulares e sua composição piramidada, em coerência com o Princípio da Precaução, o MDA se posiciona a favor da manutenção das avaliações de risco para liberação dos eventos **MON 531 X MON 1445, MON 810 x NK 603 e BT 11 x GA 21**, conforme explicitado na Resolução Normativa nº5 estabelecida pela CTNBio, bem como em sua diretrizes complementares.

A título de contribuição para com a CTNBio, neste tema, este relator acrescenta dois pontos adicionais a este parecer de vistas.

1 - Breve alerta quanto aos possíveis desdobramentos desta deliberação.

Sabe-se que a Lei de Biossegurança (Lei nº 11.105/05, art. 14, XII) determina que a CTNBio emita uma decisão técnica relativamente a biossegurança de cada evento com tecnologia GM. Trata-se de exigência de análise caso a caso, como se percebe no texto da lei (destaques acrescentados por este relator):

Art. 14, inciso XII – emitir decisão técnica, caso a caso, sobre a biossegurança de OGM e seus derivados no âmbito das atividades de pesquisa e de uso comercial de OGM e seus derivados, inclusive a classificação quanto ao grau de risco e nível de biossegurança exigido, bem como medidas de segurança exigidas e restrições ao uso;

Sabe-se, também que o § 5º deste mesmo art. 14, prevê uma **única exceção** para dispensa do parecer técnico caso a caso, no caso dos derivados de OGMs já aprovados. Esta exceção refere-se a caso de produtos DERIVADOS de OGM já avaliado pela CTNBio, como se percebe no texto da lei (destaques acrescentados por este relator):

Art. 14 § 5º - Não se submeterá a análise e emissão de parecer técnico da CTNBio o derivado cujo OGM já tenha sido por ela aprovado.

A hipótese de dúvidas quanto ao que sejam DERIVADOS é dirimida no texto da lei. Para a Lei de Biossegurança as sementes não constituem eventos derivados dada sua capacidade autônoma de replicação, como se percebe no texto legal (destaques acrescentados por este relator):

Art. 3º, VI – derivado de OGM: produto obtido de OGM e que não possua capacidade autônoma de replicação ou que não contenha forma viável de OGM;

Neste sentido parece claro que uma eventual deliberação favorável à demanda das organizações, no sentido de dispensa de análise aos eventos piramidados, sem análise adicional, caso a caso, conteria ilegalidade incompatível com a tradição desta Comissão.

O texto da RN 5, em que se apóia a demanda das empresas, afirma em seu artigo 4º que:

Art. 4º. A critério da CTNBio, sob consulta, poderão ser dispensadas a análise e a emissão de novo parecer técnico sobre OGMs que contenham mais de um evento, combinados através de melhoramento genético clássico e que já tenham sido previamente aprovados para liberação comercial pela CTNBio.

Cabe uma pergunta à presidência desta casa. Na eventualidade de contestação judicial à uma também eventual decisão favorável à solicitação das empresas (de liberação comercial dos eventos estaqueados, sem análises específicas, caso a caso), em ocorrendo problemas ambientais ou prejuízos de qualquer ordem, a terceiros, a quem caberia a responsabilidade dos danos?

O questionamento é cabível pois a Lei de Biossegurança informa que:

Art. 20. Sem prejuízo da aplicação das penas previstas nesta Lei, os responsáveis pelos danos ao meio ambiente e a terceiros responderão, solidariamente, por sua indenização ou reparação integral, independentemente da existência de culpa.

Aparentemente, todos os que concorreram para o dano podem ser responsabilizados, independentemente de se comprovar a culpa, ou seja, a intenção de provocar aquele resultado. Pergunta-se – estariam incluídos entre os “responsáveis concorrentes para o dano”, a empresa detentora da tecnologia, a Comissão que atesta sua biossegurança – com reflexos sobre cada membro- e o agricultor que manipula a tecnologia?

2 – Sugestão à CTNBio.

Que sejam incorporadas as seguintes exigências (em adição a RN 5), na avaliação de eventos similares:

- Completa caracterização de qualquer modificação em OGMs piramidados, comparativamente a seus parentais e isogênicos não GM;
- Complementação de dados obtidos por Southern blot com base em análise por PCR, para caracterização molecular dos OGM piramidados.
- Caracterização fenotípica e composicional dos OGMs piramidados, considerando a nova combinação dos transgenes e seus backgrounds genéticos.
- Atualização das avaliações de riscos associados aos eventos singulares, caso a caso, e estudos de campo para os eventos piramidados, levando em conta a possibilidade de surgimento de resistência múltiplas nas comunidades florísticas e faunísticas alvos, nos diferentes biomas;
 - Adaptações necessárias aos planos de monitoramento, para os OGMs piramidados.

Porto Alegre, 15 de maio de 2009.

Referências:

1. **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.
2. **Adam, A. et al. 1997.** The oral and intratracheal toxicities of Roundup and its components to rats. *Vet. Hum. Toxicol.* **39**, 147-151.
3. **Anderson, P.L., Hellmich, R.L., Sears, M.K., Sumerford, D.V. & Lewis, L.C. 2004.** Effects of Cry1Ab-expressing corn anthers on monarch butterfly larvae. *Environ. Entomol.* **33**, pp. 1109-1115.
4. **Anderson, P.L., Hellmich, R.L., Prasifka, J.R. & Lewis, L.C. 2005.** Effects on fitness and behavior of monarch butterfly larvae exposed to a combination of Cry1Ab expressing corn anthers and pollen. *Environ. Entomol.* **34**, pp. 944-952.
5. **Bai, Y.Y., Jiang, M.X. & Cheng, J.A. 2005.** Effects of transgenic cry1Ab rice pollen on fitness of *Propylaea japonica* (Thunberg). *J. Pest Sci.*, **78**, 123-128.
6. **Baur, M.E. & Boethel, D.J. 2003.** Effect of Bt-cotton expressing Cry1A(c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. *Biol. Contr.*, **26**, 352-332.
7. **Benachour et al., 2007.** Time- and Dose-dependent Effects of Roundup on Human Embryonic and Placental Cells. *Arch. of Env. Contam. and Tox.* May 2007.
8. **Benachour, N. & Seralini, G.-E. 2008.** Glyphosate Formulations Induce Apoptosis and Necrosis in Human Umbilical, Embryonic, and Placental Cells. *Chemical Research Toxicology*, DOI: 10.1021/tx800218n, Article ASAP. Publicado também pela American Chemical Society em 2009, *Chem. Res. Toxicol.*, **22**, p. 97-105
9. **Benbrook, Charles M., 2004.** *Genetically Engineered Crops and Pesticide use in the United States: The First Nine Years*. Technical paper n7, disponível em http://www.biotech-info.net/full_version_first_nine.pdf
10. **Bøhn, 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.
11. **Bolognesi et al., 1997.** *J. Agric. Food Chem.*, n°**45**, 1997, p. 1957-1962.
12. **Bravo, A., Gill, S.S. & Soberon, X. 2007.** Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon* **49**, pp. 423-435.
13. **Brinks, A., Prütz, G. & Dettner, K. 2004.** Bioassays on the effects of insect-resistant *Bacillus thuringiensis*-maize on the pupal hyperparasitoid *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae). *Mitt. Deutsch Ges. Allgem. Angew. Entomol.* **14**: 411-414.
14. **BVL, 2009.** Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (Departamento Federal de Proteção ao Consumidor e Segurança de Alimentos). Decisão oficial disponível em http://www.biosicherheit.de/pdf/dokumente/bescheid_mon810.pdf.

15. **Clements, C. et al., 1997.** Genotoxicity of select herbicides in *Rana catesbeiana* tadpoles using the alkaline single-cell gel DNA electrophoresis (Comet) assay. *Environ. Mol. Mutagenesis* 29, 277- 288.
16. **Colborn, T. 2006.** A case for Revisiting the Safety of Pesticides: A closer Look at Neurodevelopment. *Env. Health Perspe.*, **114**:10-17. 2006.
17. **Cordeiro, A.P.; Alves, A.C.; Ogliari, J. Challenges, for co-existence in small-scale farming: the case of maize in Brazil. 2008.** 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.
18. **Crickmore, N. 2005.** Using worms to better understand how *Bacillus thuringiensis* kills insects. *Trends in Microbiol.*, **13**, 347-350.
19. **Dallegrave, E., DiGiorgio Mantese, F., Soares Coelho, R., Pereira, J.D., Dalsenter, P.R. & Langeloh, P. 2003.** The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats. *Toxicology Letters*, **142** (2003) 45-/52.
20. **Daruich, J. et al. 2001.** Effect of the herbicide glyphosate on enzymatic activity in pregnant rats and their fetuses. *Environ. Res.*, **85**, 226-231.
21. **de la Cruz, F., and J. Davies. 2000.** Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria. *Trends Microbiol.* **8**:128–133.
22. **Deml, R., Meise, T. & Dettner, K. 1999.** Effects of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins on food utilization, growth and survival of selected phytophagous insects. *J. Appl. Entomol.* **123**, pp. 55-64.
23. **De Roos, A.J, Blair, A., Rusiecki, J.A., Hoppin, J.A., Svec, M., Dosemeci, M., Sandler, D.P. & Alavanja, M.C. 2005.** Cancer Incidence among Glyphosate-Exposed Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect*, **113**:49–54 (2005). doi:10.1289.
24. **Dively, G.P., Rose, R., Sears, M.K., Hellmich, R.L., Stanley-Horn, D.E., Calvin, D.D., Russo, J.M. & Anderson, P.L. 2004.** Effects on monarch butterfly larvae (Lepidoptera: Danaidae) after continuous exposure to Cry1Ab-expressing corn during anthesis. *Environmental Entomology* **33**(4): 1116- 1125.
25. **Domingo, Jose L. Health Risks of GM Foods: Many Opinions but Few Data.** By:, Science, 00368075, 06/09/2000, Vol. 288, Issue 5472
26. **Domingo, Jose L.** Toxicity Studies of Genetically Modified Plants: A Review of the Published Literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47:721–733 (2007)
27. **Dutton, A., Klein, H. & Romeis, J. 2002.** Uptake of Bt toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Environmental Entomology* **27**, 441-447.
28. **EFSA, 2008.** Request from the European Commission related to the safeguard clause invoked by France on maize MON810 according to Article 23 of Directive 2001/18/EC and the emergency measure according to Article 34 of Regulation (EC) No 1829/2003. *The EFSA Journal*, **850**, 1-45.
29. **EFSA, 2007.** Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events. *The EFSA Journal* **512**, 1-5.
30. **Escher, N., Käch, B. & Nentwig, W. 2000.** Decomposition of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize by microorganisms and woodlice *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda). *Basic and Applied Ecology* **1**: 161-169.

31. **FAO 2004.** *Agricultural biotechnology: meeting the needs of the poor?* Disponivel em <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/006/Y5160e/y5160e01.pdf>
32. **Felke, M., Lorenz, N. & Langenbruch, G.-A. 2002.** Laboratory studies on the effects of pollen from Bt-maize on larvae of some butterflies species. *J. Appl. Entomol.*, **126**, 320-325.
33. **Felke, M. & Langenbruch, G.-A. 2003.** Wirkung von Bt- Mais-Pollen auf Raupen des Tagpfauenauges im Laborversuch. *Gesunde Pflanze* **55**(1): 1-4.
34. **Felke, M. & Langenbruch, G.-A. 2004.** Untersuchungen zu subletalen Effekten geringer Pollenmenge der transgenen Maislinie Bt176 auf Raupen des Tagpfauenauges (*Inachis io*) und der Kohlmotte (*Plutella xylostella*). *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft* **396**.
35. **Felke, A. & Langenbruch., G.A. 2005.** Auswirkungen des Pollens von transgenem Bt-Mais auf ausgewählte Schmetterlingslarven. *BfN-Skripten* **157** Bundesamt für Naturschutz.
36. **Finamore, A., Roselli, M., Britti, S., Monastra, G., Ambra, R., Turrini, A. & Mengheri, E. 2008.** Intestinal and Peripheral Immune Response to MON810 Maize Ingestion in Weaning and Old Mice. *J. Agric. Food Chem.*, **56** (23), pp 11533–11539.
37. **Flores, S., Saxena, D. & Stotzky, G. 2005.** Transgenic Bt plants decompose less in soil than non-Bt plants. *Soil Biology & Biochemistry* **37**, 1073–1082.
38. **Gomez, I., Arenas, I., Benitez, I., Miranda-Rios, J., Becerril, B., Grande, R., Almagro, J.C., Bravo, A. & Soberon, M. 2006.** Specific epitopes of domains II and III of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin involved in the sequential interaction with cadherin and aminopeptidase-N receptors in *Manduca sexta*. *J. Biol. Chem.* **281**, pp. 34032-34039.
39. **Hellmich, R.L., Sigfried, B.D., Sears, M.K., Stanley-Horn, D.E., Mattila, H.R., Spencer, T., Bidine, K.D., Daniels, M.J. & Lewis, L.C. 2001.** Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **98**, 11925-11930.
40. **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.
41. **Hilbeck, A., Moar, W.J, Puzsai-Carey, M., Filippini, A. & Bigler, F. 1998b.** Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environm. Entomol.* **27**, 1255-1263.
42. **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.
43. **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.
44. **Hopkins, D.W., Webster, E.A., Chudek, J.A. & Halpin, C. 2001.** Decomposition in soil of tobacco plants with genetic modifications to lignin biosynthesis. *Soil Biology & Biochemistry* **33**, 1455-1462.
45. **Hussein, H.M., Habušťová O. & Sehnal, F. 2005.** Beetle-specific *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa toxin reduces larval growth and curbs reproduction in *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Pest Manag. Sci.*, **61**, 1186–1192.

46. **Hussein, H.M., Habuštová O. Turanli, F. & Sehnal, F. 2006.** Potato expressing beetle-specific *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa toxin reduces performance of a moth. *J. Chem. Ecol.*, **32**, 1–13.
47. **IAASTD- International Assessment of Agricultural Knowledge, Science and Technology for Development, 2009.** Executive Summary of the Synthesis Report. Island Press, Washington, DC.
48. **Jesse, L.C.H. & Obrycki, J.J. 2000.** Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia*, **125**, 241-248.
49. **Jimenez-Juarrez, N., Munoz-Garay, C., Gomez, I., Saab-Rincon, G., Damina-Almazo, J.Y., Gill, S.S., Soberon, M. & Bravo, A. 2007.** *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab mutants affecting oligomer formation are non-toxic to *Manduca sexta* larvae. *J. Biol. Chem.* **282**, pp. 21222-21229.
50. **Kamel, F. & Hoppin, J.A. 2004.** Association of Pesticide Exposure with Neurologic Dysfunction and Disease. *Env. Health Persp.*, vol. **112**, n°9, juin 2004.
51. **Kate et al., 1995.** *Environ. Mol. Mutagen*, n°**25**, 1995, p. 148-153.

52. **Lamb, D.C., Kelly, D.E., Hanley, S.Z., Mehmood, Z. & Kelly, S.L. 1998.** Glyphosate is an inhibitor of plant cytochrome P450: functional expression of *Thlaspi arvensae* cytochrome P45071B1/reductase fusion protein in *Eschericia coli*. *Biochem Biophys Res Commun* **244**:110–114.
53. **Lang, A. & Vojtech, E. 2006.** The effects of pollen consumption of transgenic Bt maize on the common swallowtail, *Papilio machanon* L. (Lepidoptera, Papilionidae). *Basic and Applied Ecology* **7**(4): 296-306.
54. **Lioi M.B. et al., 1998.** Genotoxicity and oxidative stress induced by pesticide exposure in bovine lymphocyte cultures in vitro. *Mutat. Res.*, **403**, 13-20.
55. **Losey, J.E., Rayor, L.S. & Carter, M.E. 1999.** Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* **399**: 214-214.
56. **Lundgren, J.G. & Wiedenmann, R.N. 2002.** Coleopteran-specific Cry3Bb toxin from transgenic corn pollen does not affect the fitness of a nontarget species, *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera: Coccinellidae). *Environ. Entomol.* **31**, pp. 1213-1218.
57. **Manzur, M. I., Catacora, G., Cárcamo, M.I., Bravo, E., Altieri, M. (Eds.), 2009.** América Latina. La Transgénesis de un Continente. Visión crítica de una expansión descontrolada. RALLT, SOCLA e RAP-AL. Buenos Aires, 110p.
58. **Marc et al., 2002.** Pesticide Roundup Provokes Cell division Dysfunction at the Level of CDK1/Cyclin B Activation. *Chem. Res. Toxicol.* **15** (3): 326-31 Mar02.
59. **Masoero, F., Moschin, M., Rossi, F., Prandini, A. & Pietri, A. 1999.** Nutritive value, mycotoxin contamination, and in vitro rumen fermentation of normal and genetically modified corn (Cry1Ab) grown in northern Italy. *Maydica* **44**, 205–209.
60. **Meier, M.S. & Hilbeck, A. 2001.** Influence of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on prey preference of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Basic Appl. Ecol.*, **2**, 35-44.
61. **Meissle, M., Vojtech, E. & Poppy, G.M. 2003.** Implications for the parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) when developing in *Bt*

- maize-fed *Spodoptera littoralis* larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *GMOs in Integrated Production*, IOBC/WPRS Working Group. **27** (3), pp. 117-123.
62. **Meissle, M., Vojtech, E. & Poppy, G.M. 2005.** Effect of Bt maize-fed prey on the generalist predator *Poecilus cupreus* L. (Coleoptera: Carabidae). *Transgenic Res.*, **14**, 123-132.
 63. **Obrist, L.B., Klein, H., Dutton, A. & Bigler, F. 2006b.** Assessing the effects of Bt maize on the predatory mite *Neoseiulus cucumeris*. *Exp. Appl. Acarol.*, **38**, 125-139.
 64. **Peluso et al., 1998.** 32P-postlabeling detection of DNA adducts in mice treated with the herbicide Roundup. *Environ. Mol. Mutagen*, n°**31**, p. 55-59.
 65. **Pengue, W., 2003.** *Argentina: sintomas de un país desquiciado*. Le Monde Diplomatique, n 47, maio 2003, p11
 66. **Pengue, W. 2004.** *Soja: El grano de la discordia?* Noticias-Economia. 24 enero 2004, p36-38
 67. **Pigott, C.R. & Ellar, D.J. 2007.** Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **71**, pp. 255-281.
 68. **Pilcher, C.D., Rice, M.E. & Obrycki, J.J. 2005.** Impact of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn and crop phenology on five nontarget arthropods. *Env. Entomol.* **34**(5): 1302-1316.
 69. Piñeyro-Nelson, A., Van Heerwaarden, J., Perales, H.R., Serratoshernández, J.A., Rangel, A., Hufford, M.B., Gepts, P., Garay-Arroyo, A., Riverabustamante, R., Álvarez-Buylla, E.R. **Transgenes in Mexican maize: molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations.** *Molecular Ecology* (2008). doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03993.x
 70. Oplinger, E.S., Martinka, M.J., Schmitz, K.A, XXXXX *Performance of transgenic soybeans – Northern US.* Disponivel em http://www.biotech-info.net/soybean_performance.pdf.
 71. **Poerschmann, J. & Kopinke, F. 2001.** Sorption of very hydrophobic organic compounds (VHOCs) on dissolved humic organic matter (DOM). 2. Measurement of sorption and application of a Flory-Huggins concept to interpret the data. *Environmental Science & Technology* **35**: 1142- 1148.
 72. **Poerschmann, J., Gathmann, A., Augustin, J., Langer, U. & Gorecki, T. 2005.** Molecular composition of leaves and stems of genetically modified Bt and near – isogenic non-Bt maize – characterization of lignin patterns. *Journal of Environmental Quality* **34**, 1508–1518.
 73. **Pont, B. & Nentwig, W. 2005.** Quantification of *Bt*-protein digestion and excretion by the primary decomposer *Porcellio scaber*, fed with two *Bt*-corn varieties. *Biocontrol Sci. Technol.* **15**, pp. 341-352.
 74. **Prütz, G. & Dettner, K. 2004.** Effect of Bt-corn leaf suspension on food consumption by *Chilo partellus* and life history parameters of its parasitoid *Cotesia flavipes* under laboratory conditions. *Entomol. Exp. Appl.*, **111**, 179-187.
 75. **Prütz, G., Brink, A. & Dettner, K. 2004.** Transgenic insect-resistant corn affects the fourth trophic level: effects of *Bacillus thuringiensis*-corn on the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi*. *Naturwissenschaften*, **91**, 451-454.
 76. **Quist D., Chapela I.H. 2001.** Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature* 414: 541-3

77. **Richard et al. 2005.** Differential effects of glyphosate and Roundup on human placental cells and aromatase, *Environ Health Perspect.*, vol. 113: 716-720.
78. **Rodrigo-Simon, A., De Maagd, R.A., Avilla, C., Bakker, P.L., Molthoff, J., Gonzalez-Zamora, J.E. & Ferre, J. 2006.** Lack of detrimental effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins on the insect predator *Chrysoperla carnea*: a toxicological, histopathological, and biochemical analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, pp. 1595-1603.
79. **Rosati, A., Bogani, P., Santarlasci, A. & Buiatti, M. 2008.** Characterisation of 3' transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 YieldGard maize. *Plant Mol. Biol.*, **67**:271-281.
80. **Saxena, D. & Stotzky, G. 2001.** Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn. *American Journal of Botany* **88**, 1704–1706.
81. **Schmidt, J.E.U., Braun, C.U., L'Abate, C., Whitehouse, L.P. & Hilbeck, A. 2004.** Studies on effects of *Bacillus thuringiensis*-toxins from transgenic insect-resistant plants on predaceous lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae). [Untersuchungen zu Effekten von *Bacillus thuringiensis*-Toxinen aus transgenen insektenresistenten Pflanzen auf räuberische Marienkafer (Coleoptera: Coccinellidae)]. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* **14**, pp. 419-422.
82. **Schmidt, J.E.U., Braun, C.U., Whitehouse, L.P. & Hilbeck, A. 2009.** Effects of Activated Bt Transgene Products (Cry1Ab, Cry3Bb) on Immature Stages of the Ladybird *Adalia bipunctata* in Laboratory Ecotoxicity Testing. *Arch Environ Contam Toxicol.*, **56**, 221-228.
83. **Schnurr, J.A. & Guerra, D.J. 2000.** The CaMV-35S promoter is sensitive to shortened photoperiod in transgenic tobacco. *Plant cell reports*, vol.19, n°3, pp. 279-282.
84. **Séralini, G.E., Cellier, D. & Spiroux de Vandomois, J. 2007b.** Report on NK603 GM maize produced by Monsanto company. Controversial effects on health reported after subchronic toxicity test: 90-day study feeding rats. *Comittee for Independent Research and Information on Genetic Engineering*. June 2007.
85. **Shirai, Y. & Takahashi, M. 2005.** Effects of transgenic *Bt* corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudaeschnia zizeeria maha*. *Appl. Entomol. Zool.* **40**, pp. 151-159.
86. **Spök, A., Eckerstorfer, M., Heissenberger, A. & Gaugitsch, H. 2007.** Risk Assessment of “stacked events” [Untersuchungen zur Risiko-abschätzung von “Stacked Events”]. Bundesministerium für Gesundheit, Familie und Jugend, *Forschungsberichte der Sektion IV*, Band 2/2007.
87. **Stanley-Horn, D.E., Dively, G.P., Hellmich, R.L., Mattila, H.R., Sears, M.K., Rose, R., Jesse, L.C., Losey, J.E., Obrycki, J.J. & Lewis, L. 2001.** Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.* **98**, pp. 11931-11936.
88. **Stotzky, G. 2000b.** Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and bacterial DNA bound on clays and humic acids. *Journal of Environmental Quality*, **29**: 691-705.
89. **Surgan M. H., 2005.** Environmental Protection Bureau, New York State Attorney General's Office, New York. Press comunicação.

90. **Tesfaye, M., Temple, S.J., Allan, D.L., Vance, C.P. & Samac, D.A. 2001.**
Overexpression of malate dehydrogenase in transgenic alfalfa enhances organic acid synthesis and confers tolerance to aluminum. *Plant Physiol.*, v.127, p.1836-44.
91. **US. DHHS, 1992.** US. Dept. Of Health and Human Service. NTP technical report on toxicity studies of glyphosate (CAS No. 1071-83-6) administered in dosed feed to F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicity Report Series No. 16*. Research Triangle Park, NC : National Toxicity Program.
92. **U.S. EPA, 1986.** Office of Pesticides and Toxic Substances. Guidance for the reregistration of pesticide products containing glyphosate as the active ingredient. Washington, D.C., June.
93. **US. EPA, 1993.** Office of Pesticide Programs. Special Review and Reregistration Division. Reregistration eligibility Decision (RED): Glyphosate. Washington, D.C., sept.
94. **Velimirov, A. & Binter, C. 2008.** Biological effects of transgenic maize NK603xMON810 fed in long term reproduction studies in mice. *Forschungsberichte der Sektion IV Band 3/2008*.
95. **Walsh L.P. et al. 2000.** Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ. Health Perspect.*, **108**, 769-776.
96. **Wandeler, H., Bahylova, J. & Nentwig, W. 2002.** Consumption of two Bt and six non-Bt corn varieties by the woodlouse *Porcellio scaber*. *Basic Appl. Ecol.*, **3**, 357-365.
97. **Wester, R.C. et al. 1996.** *In vitro* percutaneous absorption of model compounds glyphosate and malathion from cotton fabric into and through human skin. *Food and Chem. Toxicol.* **34**, 731-735.
98. **Yousef, M.I. et al. 1995.** Toxic effects of carbofuran and glyphosate on semen characteristics in rabbits. *J. Environ. Sci. Health*, **B30**(4), 513-534.
99. **Yousef, M.I. et al. 1996.** A sensitive sperm-motility test for the assessment of cytotoxic effect of pesticides. *J. Environ. Sci. Health*, **B31**(1), 99 – 115.
100. **Zalunin, I., Revina, L.P., Kostina, L.I. & Chestukhina, G.G. 2004.**
Peculiarities of Cry proteins to be taken into account during their *in vivo* and *in vitro* study. *IOBC WPRS Bulletin 27*, pp. 177-185.
101. **Zangerl, A.R., McKenna, D., Wraight, C.L., Carroll, M., Ficarello, P., Warner, R. & Berenbaum, M.R. 2001.** Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**, pp. 11908-11912.
102. **Zhang, G.F.; Wan, F.H.; Lövei, G.L.; Liu, W.X.; Guo, J.Y. 2006.**
Transmission of Bt toxin to the predator *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) through its aphid prey feedins on transgenic *Bt* cotton. *Environmental Entomology*, **35**(1): 143-150.
103. **Zolla, L., Rinalducci, S., Antonioli, P. & Righetti, P.G. 2008.** Proteomics as a Complementary Tool for Identifying Unintended Side Effects Occurring in Transgenic Maize Seeds As a Result of Genetic Modificações. *Journal of Proteome Research*, **7**, 1850-1861.
104. **Zwahlen, C., Hilbeck, A., Howald, R. & Nentwig, W. 2003b.** Effects of transgenic Bt corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Mol. Ecol.* **12**: 10077-1086.

