

**Parecer - Processo: 01200.004604/2011-01****Solicitação de Liberação Comercial de milho Geneticamente Modificado resistente a insetos e tolerante ao herbicida Glufosinato de Amônio TC1507 x DAS-59122-7**

**Avaliação elaborada por Leonardo Melgarejo, representante do MDA na CTNBio.**

Outubro de 2012.

Trata-se de avaliação de processo que defende a segurança do milho **TC1507 x DAS-59122-7** considerando aspectos de riscos à saúde humana e animal, bem como ao meio ambiente. Os demandantes sustentam este pedido com base em respostas à questionamentos estabelecidos pela CTNBio em sua Resolução Normativa 05, de 12 de março de 2008<sup>1</sup>.

A Planta Geneticamente Modificada (PGM) em questão provém de cruzamento tradicional entre o milho **TC1507** (liberado comercialmente pela CTNBio em dezembro de 2008, contendo os genes *Cry1F* e *pat*) e o milho **DAS-59122-7** (inédito no mercado nacional, este milho contém os genes *pat*, *Cry34Ab1* e *Cry35Ab1*).

Os argumentos apresentados se apoiam essencialmente em relatórios técnicos produzidos pela empresa, em sua maioria não publicados, avaliando dados de campo coletados em outros países e no Brasil. Aqui, os dados que sustentam o dossiê provém, fundamentalmente, de duas Liberações Planejadas (LP) a saber: (1) A LP **01200.006006/2007-81**, implantada nos municípios de Indianópolis, MG (safra 2009/10) e Mogi Mirim, SP (safrinha 2010) e (2) a LP **01200.001227/2006-82**, conduzida em Cravinhos, SP (safrinha de 2008), Rio Verde, GO (safrinha 2008) e Castro, PR (safra 2007/08).

Neste sentido, a exigüidade de informações referentes ao meio onde o produto pretende ser liberado, bem como o fato de terem sido obtidas sob condições controladas – e em tão curto espaço de tempo- torna óbvia sua insuficiência para representar as possibilidades ambientais contidas em nossos 8 grandes biomas. Considere-se, neste ponto, a importância do ambiente e do impacto de situações adversas, enquanto elementos condicionantes da expressão de características inesperadas, potencialmente contidas no genoma desta PGM. A respeito desse assunto ver CHEN (2005), MATTHEWS et al., (2005), THEN e LORCH (2008) e TRAAVIK (2008).

Os demais estudos referidos no processo correspondem, em sua larga maioria, a relatórios internos de empresas de biotecnologias (não publicados), ou a referências não incluídas na bibliografia disponibilizada, ou ainda a relatórios de pesquisas de campo realizadas com os parentais do **TC1507 X DAS59122-7**. Neste último grupo destacam-se liberações planejadas efetuadas anteriormente ao pedido de liberação comercial do milho Herculex, evento **TC1507**, nos municípios de Itumbiara (GO), Jardinópolis (SP), Guaíra (SP), Mogi Mirim (SP), Balsas (MA), Indianópolis (MG), Rio Verde (GO) ou, mais recentemente, relacionadas ao evento **DAS-59122-7**, em Indianópolis (MG), Mogi-Mirim (SP), Cravinhos

---

1 <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/11444.html>

(SP) e Castro (PR). Como veremos mais adiante, uma diferença da ordem de 250 vezes na expressão da proteína Cry35Ab1, medida na forragem, para o **TC1507 X DAS59122-7**, em relação ao **DAS-59122-7** (ver p.936 e 103, tabelas n.16 e n.20), entre outras, impede a aceitação de equivalência entre ambos e, portanto, não permite a utilização de dados coletados em experimentos realizados com o evento simples, para sustentação de hipóteses envolvendo o piramidado.

Ademais, considerando os dados do dossiê, percebe-se que no Nordeste brasileiro, região que concentra a maior parte dos agricultores familiares de baixa renda deste país, e que na safra de 2011 cultivou 2,44 milhões de hectares de milho (32% do total nacional) não foi coletada qualquer informação para subsidiar este pedido de LC. Trata-se de omissão relevante posto que, segundo o IBGE<sup>2</sup>, em 2011 a área cultivada na safra nordestina de milho foi 3,6 vezes maior do que aquela plantada no Centro Oeste, e 41% maior do que a cultivada no Sudeste. Considere-se ainda que a metade dos municípios onde foram obtidas informações de campo mencionadas neste estudo situa-se no Estado de São Paulo, que responde por apenas 6% da área ocupada com esta cultura, em escala nacional (IBGE 2012, p.70-71).

Como mencionado, os autores do dossiê preferiram utilizar informações de relatórios técnicos elaborados pela própria empresa, não disponibilizados, bem como avaliações não publicadas em revistas especializadas, e estudos que não puderam ser verificados (cujas referências foram omitidas da relação bibliográfica apresentada), entre outros, o que inviabilizou qualquer tentativa de verificação. De outro lado, publicações recentes, disponíveis na literatura especializada, sustentadas em revisão por pares, foram desconsideradas.

Estes e outros argumentos desenvolvidos a seguir revelam que as informações contidas no dossiê são insuficientes para atestar que a liberação comercial do milho **TC1507 x DAS-59122-7** não trará riscos à saúde humana, animal e ambiental.

Vejamos:

A maior parte dos dados relevantes provém de LP (**processo 01200.006006/2007-81**) desenvolvida apenas em Mogi-Mirim (SP, durante a safra de 2010) e em Indianópolis (MG, durante a safra 2009-2010). Esta LP pretendeu avaliar impacto do piramidado sobre comunidades de Organismos Não Alvo (ONA), fazer estudo de degradação das proteínas Cry1F, Cry34Ab1 e Cry35Ab1, avaliar a campo as características agrônômicas e a eficácia da tecnologia no controle da larva alfinete e da lagarta do cartucho, além de coletar tecidos para futuras análises. Merece destaque o fato de que em todo o estado de SP, durante a safra de 2010, foram cultivados apenas 27.434 hectares de milho, e em todo o estado de MG, durante aquela safra, 1,1 milhão de hectares de milho. Percebe-se que uma média simples dos resultados obtidos em quadros cultivados naqueles dois ambientes, além de inadequada em função das diferenças de representatividade, se faz inexpressiva para

compreensão da realidade nacional, em um país que cultivou - naquele ano-, 12,8 milhões<sup>3</sup> de hectares de milho (IBGE, 2011). Em outras palavras, se faz necessária, e não é suprida neste processo, a disponibilização de informações compostas, que assegurem cobertura dos principais ambientes nacionais e que também permitam interpretações independentes, para as regiões e épocas de plantio relevantes, considerando a pressão de fatores bióticos e abióticos.

Soma-se a esta afirmativa o fato de que alguns dos resultados apresentados naquele estudo (processo 6006) permitem dúvidas substantivas. Por exemplo: para o táxon *Hymenoptera* o número de indivíduos encontrado nas 4 coletas realizadas em áreas cultivadas com o **TC1507 x DAS-59122-7** e com sua isolinha com e sem inseticida, foi, respectivamente, ZERO, 31 e 39 (município de Mogi-Mirim, Tabelas 9 e 10, f.158 e 159, processo **01200.006006/2007-81**). Já para o táxon *Collembola*, em MG, a coleta mostrou diferenças de aproximadamente 4,5 vezes no número de indivíduos coletados ; (Indianópolis, tabelas 11 e 12, folhas 159-160 - contagem de 5 indivíduos no piramidado e de 24 na isolinha com inseticida). Em ambos os casos as análises informaram que tais diferenças não seriam estatisticamente significativas. A indisponibilidade dos dados básicos impede a verificação desta conclusão que, dada a distância entre os números, não deixa de ser surpreendente.

Talvez este fato se explique com a afirmativa de que “os dados de número de indivíduos foram transformados em raiz quadrada de  $(x+1)$ , antes de serem submetidos à análise de variância”, (p.279 do processo n°. 01200.004604/2011-01, item 8.1.4.4 - **Análise dos dados de avaliação das populações de artrópodes não alvos no milho TC1507 x DAS-59122-7**).

Aliás, a utilização de transformações nos dados reais, sem explicações e justificativas para tanto, se repete nas tabelas 129, 130, 131, 132, 134, 135, 136, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 168, 187, 188, 189,193, 194, 195,196, 197, 198,199, 200, 201, 202, 203, 204, 205 , 206 e 207. Nestes casos os dados reais ( $x$ ) foram transformados, antecipadamente às avaliações, para **Raiz Quadrada de  $(x+1)$**  ou **Raiz Quadrada de  $(x+0,5)$** , ou **LN  $(x+0,5)$** , ou ainda para **arco seno da raiz quadrada de  $((x+1)/100)$** .

Estas transformações pretenderiam resolver problemas associados à distribuição dos dados? Estaríamos diante de esforço para correção de problemas de heterocedastidade ou de ausência de normalidade nas distribuições? Os autores não explicam. Mais do que isso, não adotam o mesmo procedimento para todos os casos. Qual a seria a justificativa para que, em outras situações onde a distribuição dos dados é claramente assimétrica, a exemplo das tabelas 92, 93, 96, 97, 98, 99,100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 111, 112, 115, 116, 117, 118, 121, 122, 123 e 124, onde são consideradas contagens e percentuais com grande frequência de valores nulos ou quase nulos, os dados tenham sido mantidos em seu formato original e os testes tenham sido realizados sem qualquer transformação? Ademais, se algum leitor supõe que foram realizadas avaliações envolvendo análises não paramétricas, se equivoca. A expressão “não-paramétrica” e os testes tradicionalmente usados na comparação de ordenamentos não figuram neste dossiê.

Portanto, se faz necessário que os autores justifiquem as transformações utilizadas, explicitando quando se tratou de esforço para correção de ausência de normalidade ou ausência de homogeneidade na distribuição das variâncias, ou ambos, e informando se o problema foi corrigido após as transformações adotadas, bem como os testes utilizados para sua verificação.

Solicita-se, neste ponto, acesso aos dados originais, não transformados, que deram base às análises. Recomenda-se, para casos onde o problema é de ausência de normalidade, que seja utilizada análise multivariada, com permutações (ver MANLY, 2007; McARDLE & ANDERSON, 2004 e TORRES et al., 2010) e, quando houver heterogeneidade de variância, especialmente com dados de abundância de organismos, sejam tomadas as devidas precauções para evitar inflação do Erro Tipo I, conforme recomendações de McARDLE & ANDERSON, 2004.

Informo, como fator de preocupação adicional, que análise das 13 liberações planejadas<sup>4</sup> associadas a este evento e seus parentais não permite qualquer esclarecimento a respeito desta questão.

A outra LP realizada com este piramidado, processo n. **01200.001227/2006-82**, pretendia tão somente avaliar a eficácia do milho transformado com os genes Cry1F, Cry34Ab1 e Cry35Ab1, para controle de danos provocados pela larva alfinete (*Diabrotica speciosa*) e pela lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera sp.*). Portanto, trata-se de estudo que não oferece qualquer aporte sobre temas de biorrisco, impactos ambientais ou características das plantas modificadas.

Esta liberação ocorreu na safra 2007-08, em Castro (PR), Cravinhos (SP) e Rio Verde (GO). Neste caso, para fins de análise estatística, os dados reais correspondentes à avaliações de danos nas raízes de milho, causados por larvas de *Diabrotica speciosa*, foram transformados para **Log (x+1)**. Nesta circunstância<sup>5</sup>, que já foi comentada em parágrafos anteriores, não é de espantar que diferenças de duas a três vezes, observadas em tratamentos de segundo plantio, comparando o piramidado com seu iso-híbrido sem inseticida, tanto em Cravinhos como em Castro e Rio Verde, tenham sido consideradas não significativas.

Nesta mesma LP ainda chama atenção a referência a estudos que não seriam objeto daquela pesquisa, e que atestariam tanto a segurança alimentar e nutricional do piramidado como sua inocuidade para organismos não alvo. Infelizmente a maior parte dos trabalhos referidos como sustentáculo para tais afirmativas não aparece na relação bibliográfica<sup>6</sup>

---

4 Refirmo-me aos processos n. 01200.006845/2001-12, 01200.002223/2004-50, 01200.004778/2004-36, 01200.006293/2004-87, 01200.000440/2005-96, 01200.003401/2005-41, 01200.000702/2005-12, 01200.001227/2006-82, 01200.007232/2006-07, 01200.006006/2007-81, 01200.001583/2008-68, 01200.001778/2008-16 e 01200.002420/2010-17

5 Ver tabela 2, f.190, processo **01200.001227/2006-82**.

6 Na bibliografia anexada a este parecer não serão incluídos documentos referenciados no Processo n°. 01200.004604/2011-01, aqui avaliado. Estes documentos são aqui mencionados apenas para fins de registro e argumentação. Interessados em detalhes devem procurar a Dow AgroSciences Sementes &

disponibilizada. Como exemplos, considere Smith e Hinds, 2003 – referindo equivalência nutricional para frangos alimentados por 42 dias; Bryan et al. 2000 - referindo ausência de impacto sobre minhocas, e joaninhas; Teixeira, 2001 – referindo inexistência de impactos sobre *Collembola* ; Marino e Yarocho, 2001– referindo inexistência de impactos sobre *Daphnia*; Poletika 2003 – referindo inexistência de impacto sobre trutas arco-íris : Maggi 2001– referindo inexistência de impactos sobre abelhas; - Sindermann et al. 2001– informando inexistência de impactos sobre larvas de *Chrysoperla* e sobre vespas parasitóides – *Nasonia vitripennis* -; e Bryan et al, 2001– mencionando inexistência de impactos em joaninhas.

Além destas informações soltas, que não puderam ser conferidas, os argumentos daquele processo apontam para estudos realizados pelas próprias empresas, correspondendo a relatórios técnicos não publicados, que também não estão disponíveis. Outros exemplos seriam Hoxter, 1999 – relatório interno Dow/Mycogen, referindo inexistência de impactos sobre crisofídeos e himenópteros; Brooks e De Wildt, 2000 e Kuhn, 1998 - referindo inexistência de impactos sobre camundongos, (relatórios internos da Mycogen e da Dow), entre outros.

Ademais, nos estudos de campo realizados ao longo destas duas LPs foram utilizados diferentes agroquímicos em dosagens e formulações variadas, o que muito provavelmente afetou a variância dos resultados. Com isso, ao confundirem-se com efeitos dos ambientes, as práticas de manejo podem ter mascarando os tratamentos, comprometendo o poder dos testes. Não é de surpreender, portanto, que à escassa identificação de diferenças, para os tratamentos, se oponha tão frequente e forte presença de impactos ambientais.

Talvez esta espécie de contaminação dos dados explique porque algumas das tabelas referentes aos parentais e ao piramidado (ou utilizadas como sustentação de argumentos referentes ao piramidado) informem valores situados aquém ou além dos limites adotados como referência, em intervalos construídos com base na bibliografia internacional. Considere que este fato se repete para diversos parâmetros de grande relevância, tais como:

O percentual de alguns ácidos graxos (Mirístico , tab 29 p.138) de carboidratos, de Fibra Detergente Ácida-FDA (Tab 25, p. 135) , o teor de Fósforo (mg/100 g de peso seco – tab 27, p.136), o percentual de proteína (medida como 6,25 x % de N total), de carboidratos (medido como 100-cinzas+extrato etéreo+proteína+umidade) e de cinzas (ver tab 32, p.140), bem os teores de cálcio, de fósforo, de ferro, de potássio e de zinco (em mg/100 g peso seco, ver tab 33, p.141) e o % dos amino-ácidos histidina, fenilalanina e valina<sup>7</sup> (tab

---

Biotecnologia Brasil Ltda. e DuPont do Brasil S.A. - Divisão Pioneer Sementes, ou a CTNBio, onde o documento básico está arquivado como: Processo n°. 01200.004604/2011-01. Liberação comercial de milho geneticamente modificado resistente a insetos e tolerante ao herbicida glufosinato de amônio TC1507 x DAS-59122-7; Protocolado em 07/12/2011.

7 Vale a pena referir que dos 8 aminoácidos considerados na análise de silagem do milho TC1507, três se situaram abaixo do mínimo considerado em intervalos de referencia da literatura, e cinco foram comparados com intervalos NR, onde consta que os valores de referencia seriam NÃO REPORTADOS na literatura internacional.

34, p. 142) se mostram inferiores ao mínimo referido para os valores da literatura internacional, segundo o próprio dossiê.

Não menos relevantes são aqueles casos onde o valor identificado nas análises utilizadas para sustentação do pedido de LC se situam além dos valores máximos observados na literatura. Com exemplo, veja o percentual dos ácidos graxos heptadecanóico e lignocérico (tab 29, p. 138) no TC1507, e do ácido lignocérico (em %) bem como a presença do tocoferol total (em mg/kg de peso seco) , no grão do milho piramidado (Tab 55, p.163).

Outro aspecto, e de maior relevância, corresponde a indicativos de sobre-expressão de uma das proteínas repassadas do parental para o piramidado, através de cruzamento tradicional. Segundo o dossiê enquanto a forragem R4 do **DAS-59122-7** conteria 0,14 ng daquela proteína, por mg de forragem (tab p.96), no **TC1507 x DAS-59122-7** ela estaria presente em proporção **250 vezes maior**. O dossiê informa que no piramidado deve ser esperada uma média 36,2ng da toxina por mg de forragem R4 (tab 21, p103), comparativamente aos 0,14 ng/mg observado em seu parental. Esta situação inviabiliza a utilização de dados do parental para sustentar hipóteses a respeito do piramidado e nega validade de equivalência entre eles.

E este não é um fato isolado. Também são observadas enormes diferenças de expressão para as quantidades de Cry35Ab1 produzidas na planta inteira (diferença de 184 vezes em V9 e de 226 vezes em R6 - ver p. 96 e 103).

Cabe mencionar que o dossiê inova ao adotar, em alguns casos, índices de diversidade ( $H =$  medindo relação entre a proporção do número de indivíduos observados em cada espécie, em face ao total de indivíduos capturados considerando todas as espécies), índices de equitabilidade ( $E = H/H_{max}$ ), índices de riqueza ( $\alpha = \{(n^\circ \text{ de espécies}-1)/[\text{logaritmo natural}(n^\circ \text{ de indivíduos})]\}$ ) e índices de similaridade ( $QS = 2j/(a+b)$ ), sendo  $j$  o nº de ocorrência conjunta de duas espécies, onde  $a$  e  $b$  corresponderiam aos números isolados destas espécies, observados em cada tratamento).

Porém, mesmo nestes casos, as interpretações -que apontam similaridade entre os tratamentos- merecem dúvidas na medida que -para construção dos índices- não foi estabelecida qualquer distinção entre os tipos de indivíduos e suas relações ecológicas.

Em outras palavras, as avaliações partem da simples contagem de pragas, predadores, simbioses, fitófagos, decompositores, e outros, como se todos e cada um destes seres possuíssem características similares, nos ambientes avaliados, admitindo -entre si- completa equivalência e substitutibilidade. Como ilustração considere o equívoco de comparações envolvendo contagens de tesourinhas e de lagartas, tendo em conta que as ninfas da tesourinha (*Doru luteipes*), consomem diariamente uma média de 13 ovos e 12 lagartas de primeiro ínstar, enquanto os adultos consomem uma média diária de 21 lagartas de *S.frugiperda* (PASINI et al.,2007) .

Na abordagem adotada entende-se que a diversidade seria mínima quando todos os indivíduos pertencessem a uma mesma espécie, e máxima quando todas as espécies apresentassem igual número de indivíduos, para qualquer conjunto de duas ou mais

espécies. A escassa utilidade desta medida se revela diante de dificuldades interpretativas. Por exemplo: como deve ser interpretado um baixo índice de Equitabilidade? Indicaria uma realidade indesejável na medida que mostraria presença de um pequeno número de espécies altamente dominantes? Mas a presença de espécies dominantes caracteriza necessariamente uma condição de desequilíbrio ambiental?

E em situação oposta, como interpretar a situação onde espécies não dominantes em cada um dos locais e tratamento, se fazem representar e todos os ambientes e, desta forma, ainda que secundárias nas avaliações locais alcançam condição de dominância global?

Estas questões sugerem a necessidade de avaliações que atentem para a importância relativa das espécies identificadas em cada ambiente, considerando suas flutuações e seu papel ecológico.

Neste sentido, as contagens e comparações de espécies identificadas em Mogi-Mirim e Indianópolis não podem ser consideradas suficientemente completas e esclarecedoras a ponto de suportar tomadas de decisão relativamente ao possível impacto desta tecnologia, sobre o universo de espécies em risco de extinção<sup>8</sup> dispersas ao longo dos 8 grandes biomas da realidade nacional.

Criticando a utilização descuidada deste tipo de índice, MELO (2008) informa que no contexto da Ecologia de Comunidades, diversidade indica variedade de espécies, cuja compreensão exige considerações a respeito da importância relativa de cada espécie, nos diferentes contextos.

Para aquele autor índices como o de Shannon (utilizado neste estudo) confundem componentes associados à riqueza e equabilidade de espécies e por isso permitem obtenção de resultados diferentes ou mesmo OPOSTOS, conforme os pesos (importâncias relativas) atribuídos a cada um de seus componentes. O problema estaria no fato de que pesos diferentes não apenas poderiam levar a resultados diferentes, para condições idênticas, como também permitiram obter resultados idênticos em condições absolutamente diversas, de forma que, na escolha dos pesos, os analistas estariam determinando os resultados.

Em outras palavras, com estes índices, ao optar por atribuir pesos iguais a todas as espécies (como adotado nos documentos que sustentam este pedido de LC), ou ao decidir por valorá-las de maneira específica (diferindo as espécies), tratando de distinguir a importância relativa de predadores e fitófagos, entre outros, e escolhendo cuidadosamente os valores a atribuir às importâncias relativas, os analistas poderiam obter quaisquer conclusões, validando qualquer hipótese quanto às comunidades avaliadas.

Percebe-se que a crítica de MELO (2008) é fundamentada e ameaça as conclusões que o dossiê pretende apresentar com base nos resultados que obteve calculando estes índices com aquele pressuposto de equivalência entre as espécies. Objetivamente, estou me referindo à ausência de justificativas para a decisão de adotar importâncias/pesos idênticos, para as diferentes espécies, em que pese seus distintos papéis ecológicos. Claramente esta decisão escondeu arbitrariedade que pode ser interpretada como pouco científica, e que, ao contrariar a realidade sob estudo, deve ser rejeitada.

---

8 A este respeito, ver MMA (2008).

Além disso, merece lembrança o fato de que a utilização de ACP (Análise de Componentes Principais), com base nos números de insetos mais abundantes é meramente ilustrativa, não permitindo testes e interpretações analíticas. Mais grave, embora algumas das figuras incluídas no dossiê mostrem clara separação entre os tratamentos (ver figura 31 e 32, p. 296-7) , os autores concluem que este método “não conseguiu detectar a formação de grupos definidos nas comunidades de artrópodes entre as repetições de cada tratamento” (p.297).

A seguir, são apresentados de forma sumarizada alguns outros aspectos que devem ser interpretados como fragilidades da presente solicitação de LC:

Ausência de estudos de impacto da tecnologia, em ambientes aquáticos. O documento sequer justifica esta omissão. Trata-se de questão relevante como se percebe pela disponibilidade de estudos tratando da persistência do Glufosinato de Amônio na água e nos solos, e mesmo das tecnologias BT sobre as comunidades estabelecidas naqueles ambientes. Ver por exemplo JIRAUNGKOORSKUL et al., 2003; ACINELLI et al., 2004; ALLENKING et al. 1995; RELYEA, 2005; ROSI-MARSHALL et al, 2007 e 2008; SAXENA e STOTSKY, 2001; HO, 2007; DOUVILLE et al., 2007, BOHN et al., 2008, entre outros.

Ausência do Glufosinato de amônio, nos testes nutricionais realizados para atestar segurança ao consumo. Trata-se de testes com informação insuficiente posto que a presença da proteína PAT, neste milho, só faz sentido na medida em que aquele herbicida passa a ser utilizado após o plantio, em cobertura, condição muito provavelmente associada à presença de resíduos nos grãos destinados ao consumo. O fato dos estudos serem realizados na ausência do herbicida constitui deficiência relevante dados os indícios de toxicidade do glufosinato de amônio (ver WATANABE & IWASE,1996; WATANABE,1997 e MATSUMARA et al., 2001, entre outros).

Ausência de estudos sob condições de estresse – Admitindo suficiência dos resultados médios encontrados nas escassas avaliações de campo realizadas no Brasil, o dossiê despreza o fato de que as plantas geneticamente modificadas tendem a apresentar alterações expressivas, comparativamente às culturas tradicionais, quando submetidas a estresses bióticos e abióticos (MATTHEWS et al., 2005; CHEN et al. , 2005; THEN & LORCH, 2008 ; TRAVICK , 2008). Nesta circunstâncias, é possível afirmar que nada se sabe sobre o comportamento a esperar do **TC1507 x DAS-59122-7**, em condições de seca, ataque de pragas e doenças, altas ou baixas temperaturas, excesso de umidade e suas combinações, entre outros.

Ainda assim, parte dos resultados apresentados como médias a serem esperadas sob condições normais permitem preocupações. Vejamos:

Informações sobre a expressão da proteína Cry35Ab1, Trata-se do parâmetro que segundo o dossiê apresenta “menor concordância” (p.105) no que diz respeito às quantidades sintetizadas no **TC1507 x DAS-59122-7**, comparativamente a seu parental **DAS-59122-7**. Enquanto a forragem R4 do **DAS-59122-7** conteria 0,14 ng daquela proteína, por mg de forragem (tab p.96), no **TC1507 x DAS-59122-7** ela estaria presente em proporção **250 vezes maior**. O dossiê informa que no piramidado deve ser esperada uma média 36,2ng da toxina por mg de forragem R4, comparativamente aos 0,14 ng/mg observado em seu parental.

Como o piramidado recebeu o gene *Cry35Ab1*, responsável pela produção daquela proteína, de seu parental DAS-59122-7, por cruzamento natural, o que explicaria tamanha expansão na expressão daquele transgene?

Vale repetir: a forragem R4 do piramidado apresenta um teor de Cry35Ab1 que é 250 vezes maior do que aquele observado no seu parental.

E este não é um fato isolado.

Também são observadas enormes diferenças de expressão para as quantidades de Cry35Ab1 produzidas na planta inteira. Considere o quadro a seguir, elaborado a partir de informações das Tabelas 16 e 21, páginas 96 e 103.

Quantidades (ng/mg de peso seco de tecido) de proteínas Cry35Ab1 nos milhos **TC1507xDAS-59122-7** e **DAS-59122-7** (dados extraídos das tabelas 16 e 21)

Tecido	TC1507xDAS-59122-7 (A)	DAS-59122-7 (B)	(A)/(B)
Forragem R4	36,2	0,14	258,57142857
Planta inteira R6	20,37	0,09	226,33333333
Planta inteira V9	31,3	0,17	184,11764706

Os autores do dossiê observam esta realidade sem tecer qualquer hipótese a respeito de suas causas e consequências.

Aparentemente a sobre-expressão daquela toxina decorre de interação dos transgenes com o genoma do **TC1507xDAS-59122-7**, contrariando argumentos de que o piramidado expressaria tão somente uma espécie de somatório das cargas genéticas de seus parentais. Quais seriam as implicações genéticas e metabólicas deste fato?

A sobre-expressão repercutiria sobre a qualidade das proteínas sintetizadas no piramidado? Isto teria implicações em termos de impactos ambientais? As análises toxicológicas realizadas com base na proteína extraída da bactéria teriam a mesma correspondência para esta Cry35Ab1 observada no **TC1507xDAS-59122-7** quanto para aquela presente no **DAS-59122-7**?

Estamos diante, portanto, de revelação inesperada cuja repercussão em termos de possibilidades e desdobramentos demanda por estudos adicionais e que ameaça a tese de equivalência entre o **TC1507xDAS-59122-7** e o **DAS-59122-7**.

Neste sentido, cabe suspeitar da validade de afirmativas realizadas sobre o comportamento do **TC1507xDAS-59122-7**, com base em estudos realizados com o **DAS-59122-7**. Portanto, se faz necessário rever as conclusões atribuídas ao **TC1507xDAS-59122-7** com base nos resultados das Liberações Planejadas n. 01200.00**1583**/2008-68, 01200.000702/2005-12, 01200.001778/2008-16 e 01200.002420/2010-17, que tratam apenas do **DAS-59122-7**.

#### Vejam agora outras informações sobre aspectos toxicológicos

Em avaliação de alergenicidade (p.125) o dossiê informa, com base em Song (2003), que “nenhuma homologia significativa foi observada entre as proteínas **Cry1F**, Cry34Ab1, Cry35Ab1 com relação às proteínas conhecidas como alergênicas”. Esta referência, que corresponde a relatório interno da Dow, não publicado, menciona em seu título avaliação das proteínas Cry34Ab1/35Ab1 e apenas destas. Portanto, se trata de documento que não deve ser levado em conta no que diz respeito à proteína Cry1F.

Na p.126 lê-se que “nenhum efeito agudo, crônico ou subcrônico foi detectado em decorrência do consumo dessas proteínas expressas pelo milho TCxDAS”. Trata-se de afirmativa importante, porém não sustentada de forma verificável, pelo dossiê. Isto porque, como referência a esta assertiva, são mencionados 7 estudos. Destes, 6 são relatórios internos não publicados. A referência remanescente, Health Canada 1997, se refere a milhos tolerante ao Glufosinato de Amônio. Além disso, no ano de 1997, quando aquele documento foi publicado, não havia disponibilidade deste milho transgênico contendo proteínas Cry, para ser consumido e testado.

Na p.187 lê-se que “As proteínas que apresentam efeitos tóxicos agem através da exposição oral e de forma aguda.. (.....).... Por isso a segurança das proteínas expressas pelo evento **TC1507xDAS-59122-7** foi avaliada em estudos de toxicidade aguda”.

Com base neste argumento o dossiê apresenta testes de intoxicação aguda envolvendo proteínas Cry1F, Cry35Ab1 e Cry34Ab1 produzidas em bactérias (e não aquelas produzidas na PGM) e dois relatórios não publicados das empresas de biotecnologias, que talvez possam ser considerados de avaliação sub-crônica (estudos envolvendo 90 dias- Malley, 2004 e MacKensie, 2003). Portanto, no dossiê inexistem referências bibliográficas publicadas em revistas científicas, tratando da toxicidade das proteínas Cry1F, Cry35Ab1 e Cry34Ab1, em estudos subcrônicos e crônicos com mamíferos.

Neste sentido, os autores do pedido de liberação comercial não atribuem importância à informações da bibliografia especializada – não contestadas em publicações com revisão por pares - apontando sinais de toxicidade das proteínas Cry1Ab e Cry3Bb1 em camundongos alimentados com milho Bt (Mon810: SPIROUX et al., 2009 e Mon863: SÉRALINI, et al., 2007; SÉRALINI, et al., 2009), envolvendo problemas reprodutivos (VELIMIROV, 2008; HO, 2009), entre outros (ver por exemplo DONA, 2009, MESNAGE et al., 2012).

Também deve ser levado em conta que meta análise aplicada às diferenças estatísticas relatadas em estudos subcrônicos e crônicos, publicados em revistas científicas, apontou

evidências de associação entre o consumo destas PGM e danos hepato-renais (SÉRALINI, et al., 2011),

Algumas informações aparentemente contraditórias:

Avaliação agrônômica (p.221, tab86) mostra que o milho **TC1507xDAS-59122-7** apresenta a menor produtividade em comparação a seu iso-híbrido não GM, com e sem aplicação de inseticidas. Isto contraria campanhas publicitárias apontando vantagens desta tecnologia e reforça solicitação recente, de parte dos países participantes da Convenção de Biodiversidade durante a COP-MOP6 (outubro de 2012), no sentido de inclusão de avaliações sócio-econômicas nas avaliações de risco desenvolvidas como suporte para decisões de liberação destas PGM.

A importância óbvia desta questão se soma à referida escassez de estudos independentes, na sustentação dos argumentos de inocuidade da PGM em análise, prendendo-se ao fato de que a sociedade e as relações nela estabelecidas são parte do ambiente, e têm sua estabilidade condicionada pelo equilíbrio entre sua exploração e capacidade de regeneração. Para discussão do tema ver por exemplo FAO (2004), PENGUE (2005), IAASTD (2008a, b, c e s.d.), BINIMELIS (2008), DANO (2009), IPEA (2010), HILBECK *et al.* (2011), PAVONE *et al.* (2011). Considere ainda a advertência<sup>9</sup> de IPEA (2010), quando afirma que “ao considerar que a elevação do PIB leva a uma condição ambiental melhor, desconsidera-se que, ao se atingir o ponto de máxima poluição, o ambiente pode estar muito debilitado e perdas irreversíveis podem ter ocorrido” (Iop cit.,p. 571.). Estudos do IAASTD (2008a, b, c) reforçam esta preocupação ao lembrar que as patentes sobre transgenes restringem possibilidades de experimentação independente<sup>10</sup> justificando preocupações quanto a possíveis riscos não identificados, para a saúde humana e ambiental. Estes argumentos dão peso à recomendação da COP-MOP6, no que respeita à importância de estudos sócio-econômicos previamente às decisões de liberação comercial. Infelizmente este ponto não é considerado nos documentos que sustentam este pedido. O dossiê em análise se limita a discutir comparações entre a PGM e seus iso-híbridos, inclusive minimizando a importância de diferenças estatisticamente significativas, quando estas são inegáveis. Isto ocorre, por exemplo, no caso da diferença significativa de umidade no grão<sup>11</sup> transgênico, relativamente a seu iso-híbrido, que segundo os autores do documento se explicaria “possivelmente em consequência da maior sanidade das plantas em relação ao iso-híbrido convencional” (p.221). Ora, a tabela 85 p.220 mostra inexistência

9 citando MUELLER(2007)

10 □ Editorial da revista Scientific American (ag. 2009) denunciou que empresas detentoras de patentes ocultariam informações e dificultariam pesquisas independentes. “Unfortunately, it is impossible to verify that genetically modified crops perform as advertised. That is because agritech companies have given themselves veto power over the work of independent researchers.”

ver <http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=do-seed-companies-control-gm-crop-research>

11 Diferença estatisticamente significativa para o teor de umidade, revelada na comparação, entre o **TC1507xDAS-59122-7** e seu iso-híbrido não modificado. Possivelmente associada à presença dos transgenes, esta diferença tem implicações sobre a digestibilidade dos grãos, a formulação de rações, a suscetibilidade ao ataque de carunchos, entre outros.

de diferenças de sanidade no que diz respeito à Incidência de Doenças R6 e Dano de Inseto, no tratamento e nos controles. Portanto aquela explicação não se sustenta, restando crer que os autores não conseguem justificar aquele maior teor de umidade constatado no milho GM. As implicações sócio-econômicas desta diferença nas características biológicas da PGM não são pequenas, e sua identificação recomenda solicitação de novas e mais detalhadas avaliações.

Entre as páginas 267 e 270 o dossiê aponta inexistência de impactos sobre organismos não alvo, citando estudos com mamíferos, minhocas, colêmbolas, daphnias, peixes, abelhas, vespas parasitas, crisopa e joaninhas. Para tanto, refere 9 estudos, dos quais 7 são relatórios internos não publicados e 2 foram omitidos da relação bibliográfica. De outro lado, é farta a bibliografia publicada em revistas especializadas, com revisão por pares, relatando impactos das proteínas Bt sobre insetos não alvo (ver JOHNSON et al., 1995; HILBECK & SCHMIDT, 2006; HILBECK et al, 2012; BOHN et al, 2008; BUYER e BLACKWOOD, 2008; RAMIREZ-ROMERO et al. , 2008; TREVISAN et al., 2012; CAMPOS, 2012) bem como sua permanência no solo (PALM, 1996; STOZKY, 2003; TABASHNIK et al., 2008), em circunstância agravada na presença do herbicida Glufosinato de amônio (ACINELLI et al., 2004) e na água (DOUVILLE et al, 2006; HO, 2007; ROSI-MARSHALL et al., 2007 e 2008, BOHN, 2008), aventando com possíveis repercussões sobre as redes tróficas ali estabelecidas. Este tipo de informação parece não ter sido levado em conta pelos autores do dossiê.

Entre as páginas 271-298 o processo avalia dados da LP **01200.006006/2007-81**, implantada nos municípios de Indianópolis, MG (safra 2009/10) e Mogi Mirim, SP (safrinha 2010). Ali se vê que em Indianópolis foram capturados 38 lepidópteros no milho GM, 38 no iso-híbrido com inseticida e 7, no iso-híbrido sem inseticida.

Dois aspectos chamam atenção, nestes resultados: de um lado, eles sugerem que neste caso a tecnologia não funcionou adequadamente, sendo de surpreender que a menor população de lepidópteros se fez observar exatamente no milho NM sem aplicação de inseticidas. De outro, tendo em vista que as armadilhas eram do tipo pitfall, percebe-se que o estudo deixou de considerar populações adultas, atribuindo maior importância a aspectos associados à eficácia da tecnologia do que a questões ecológicas.

#### Alguns pontos não mencionados no dossiê, e que mereceriam avaliação cuidadosa.

A bibliografia internacional e mesmo algumas LP realizadas no Brasil sugerem que -na tecnologia Bt- a inserção do transgene altera a estrutura vegetal, modificando sua composição de lignina, com implicações importantes sobre os processos de decomposição biológica, após o enterrio dos restos de cultivo ( ver SAXENA e STOTZKY 2001 e 2002a,b; LEE e STOTZKY 2003; JUNG e SCHEAFFER, 2004; TARADDFAR et al., 2012, entre outros). Além disso, segundo LYNCH & PANTING (1980), as exsudações radiculares das plantas Bt também contribuiriam para redução da biomassa microbiana afetando a relação C/N e a disponibilidade de MO (ver também ZWAHLEN et al., 2003; TURRINI et al. , 2004 ). Em solos argilosos isto seria agravado pois a toxina Bt seria

adsorvida em colóides permanecendo protegida e ativa (TAPP e STOTZKY, 1995; KOSKELLA. & STOTZKY, 1997) por períodos que, na dependência da temperatura e tipo de solo<sup>12</sup> oscilariam até 180 dias (SAXENA e STOTZKI, 2002) ou mesmo 234 dias<sup>13</sup> (TAPP e STOTZKY, 1998). Estas questões sequer são mencionadas no dossiê, constituindo lacuna importante nas análises de risco disponibilizadas para avaliação do pedido deste pedido de liberação comercial.

Um comentário final sobre a avaliação de risco, a partir das normativas em vigor.

#### RN5 - CAPITULO III - AVALIAÇÃO DE RISCO.

Art. 19. *A avaliação de risco, conforme definida no art. 4º, inciso I, desta Resolução Normativa, deverá identificar e avaliar os efeitos adversos potenciais do OGM e seus derivados na saúde humana e animal, no ambiente e nos vegetais, mantendo a transparência, o método científico e o princípio da precaução.*

Art. 20. *Deverão estar incluídas, nas respectivas propostas de liberação comercial, as informações solicitadas nos Anexos I, II, III e IV desta Resolução Normativa, devidamente documentadas por relatórios científicos dos resultados obtidos durante as liberações planejadas no meio ambiente ou de outros estudos, sem prejuízo de outras informações consideradas relevantes pela CTNBio.*

Pois bem, a empresa não apresenta informações importantes, solicitadas nos Anexos III e IV da RN5.

Mais objetivamente:

No ANEXO III, relativamente à AVALIAÇÃO DE RISCO À SAÚDE HUMANA E ANIMAL, o item (A), referente aos *Organismos consumidos como alimento*, a CTNBIO solicita:

4. *as alterações relativas ao desempenho do animal, quando alimentado com organismos geneticamente modificados ou qualquer de suas partes, in natura ou após processamento, fornecendo, inclusive, os resultados da avaliação da nutrição em animais experimentais por duas gerações, indicando as espécies utilizadas nos testes, duração dos experimentos, variações fisiológicas e morfológicas observadas em relação aos grupos-controle e alteração da qualidade nutricional, se houver;*

6. *os possíveis efeitos deletérios do OGM em animais prenhes e seu potencial teratogênico*

No ANEXO IV, onde trata de AVALIAÇÃO DE RISCO AO MEIO AMBIENTE, item A – PLANTAS, a CTNBIO pede informações sobre:

12 SAXENA & STOTZKY, 2000; LEE et al, 2003

13 ou mesmo 350 dias (SAXENA et al. 2002b)

8. os *impactos negativos e positivos aos organismos alvo e não-alvo que poderão ocorrer com a liberação do OGM, arrolando as espécies avaliadas, as razões da escolha e as técnicas utilizadas* para demonstrar os impactos;

Estas informações não são apresentadas pela demandante, fato que coloca este pedido bastante próximo do campo da ilegalidade.

### **Concluindo a argumentação**

As informações encaminhadas à CTNBio se mostram insuficientes para atestar a segurança à saúde humana e animal, bem como a inexistência de riscos ambientais.

As bases de amostragem não são representativas, muitos dos dados de campo sofreram transformações e influências que devem ser justificadas para serem aceitas. Os resultados apresentados, em alguns casos, situam-se aquém dos mínimos e além dos máximos referidos na bibliografia internacional, contrariando intervalos de referencia fornecidos pelo próprio dossiê.

As informações disponibilizadas são incompletas, as análises são frágeis e boa parte dos argumentos não podem ser verificados, resultando de estudos não publicados ou sequer incluídos na bibliografia.

Diferenças de expressão da proteína Cry35Ab1, no piramidado em relação ao parental, comprometem a hipótese de agregação aditiva para características independentes, em casos de cruzamentos tradicionais.

O processo também não aporta informações exigidas na norma legal, com destaque para os incisos 4 e 6 do anexo III e o inciso 8, do anexo IV da RN5.

Por estes motivos recomendo que o pedido seja colocado em diligência e que o processo devolvido à empresa, para adequada instrução e complementação, respondendo às críticas expostas ao longo deste parecer.

Leonardo Melgarejo

### **Bibliografia considerada**

ACCINELLI, C., Serepanti, 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. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 103: 497-507

ALLENKING, R.M., B.J. Butler. And B. Reichert, 1995. Fate of the herbicide glufosinate-ammonium in the sandy, low organic-carbon aquifer at CFB Borden, Ontario, Canada. *J. of Contaminant Hydrology*, Vol. 18, No. 2, pp. 161-179.

ARIS A.;Leblanc S. Maternal and fetal exposure to pesticides associated to genetically modified foods in Eastern Townships of Quebec, Canada. **Reprod Toxicol** (2011).

BAUMGARTE, S. & TEBBE, C.C. , 2005. Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. *Molecular Ecology*, 2005. 14, 2539-2551.

BINIMELIS, Rosa. Coexistence of Plants and Coexistence of Farmers: is an Individual Choice Possible?.*Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. 2008.

BOHN T, Primicerio R, Hessen DO, Traavik T. Reduced fitness of *Daphnia magna* fed a Bt-transgenic maize variety. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 2008, 55, 584-92

BUYER, Jeffrey S. and BLACKWOOD, Christopher B. The effects of Bt corn on soil and rhizosphere microbial communities. *United States Dept. of Agriculture. Agricultural Research Service*, 2008. Disponível em : <http://www.gmo-safety.eu/pdf/biosafenet/Buyer.pdf>

CAMPOS, Renata Calixto. Besouros Indicadores (Coleoptera, Scarabaeinae) na avaliação de alteração ambiental em fragmentos de Mata Atlântica contíguos a cultivos de milho Convencional e Transgênico. Dissertação (mestrado) UFSC. Centro de Ciências Ecológicas. Programa de Pós Graduação em Ecologia, Florianópolis SC, 83 p. 2012.

CHEN, D. Ye, G., Yang, C., Chen Y., Wu, Y. (2005) The effect of high temperature on the insecticidal properties of Bt Cotton. *Environmental and Experimental Botany* 53: 333–342

DANO, E.C. Potential, Socio-Economic, Cultural and Ethical Impacts of GMOs: Prospects for Socio-Economic Impact Assessment. In:Traavik, Terje and Ching, Lim L.; Biosafety First: Holistic Approaches to Risk and Uncertainty in Genetic Engineering and Genetically Modified Organisms. Third World Network and Genok Centre for Biosafety. Tromso, 2009. P323-336.

DONA A, Arvanitoyannis IS. Health risks of genetically modified foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2009; 49: 164–175.

DOUVILLE, M., Gagné, F., Blaise, C. & André, C. , 2007 – Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and transgenic Bt corn cry1Ab gene from an aquatic environment. *Ecotoxicology and environment Safety* 66 , pp 195-203. 2007

FAO/OMS, 2004. Emerging Risks Related to the Environment and New Technologies. Bangkok, Thailand, 2004. <http://www.fao.org/docrep/meeting/008/j3255e/j3255e00.htm>

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.

HILBECK, A. , MEIER, M., RÖMBKE, J., JÄNSCH, S. TEICHMANN, H., TAPPESER, B., 2011. Environmental risk assessment of genetically modified plants- concepts and controversies. *Environmental Sciences Europe* 2011, 23:11.

HILBECK, Angelika, McMILLAN, J. ; MEIER, Matthias; HUMBEL, Anna; SCHÄPFER-MILLER, Juanita and TRTIKOVA, Miluse. A controversy re-visited: Is the coccinellid *Adalia bipunctata* adversely affected by Bt toxins? *Environmental Sciences Europe* 2012, 24:10.

HO MW. Bt crops threaten aquatic ecosystems. [Science in Society](#) 36, 49, 2007

HO MW. GM maize reduces fertility & deregulates genes in mice. [Science in Society](#) 41, 40-41, 2009.

IAASTD, 2008a – Agriculture at a Crossroads – Synthesis Report - Island Press, 2008. [PDF](#) disponível em [http://www.agassessment.org/reports/IAASTD/EN/Agriculture%20at%20a%20Crossroads\\_Synthesis%20Report%20%28English%29.pdf](http://www.agassessment.org/reports/IAASTD/EN/Agriculture%20at%20a%20Crossroads_Synthesis%20Report%20%28English%29.pdf)

IAASTD , 2008b – Food safety, plant and animal health: human health and sustainability dimensions. Issues in Brief. Island Press, 2008. - em [http://www.agassessment.org/docs/10505\\_FoodSafe.pdf](http://www.agassessment.org/docs/10505_FoodSafe.pdf)

IAASTD, 2008c – Human Health and Nutrition. Issues in Brief. Island Press, 2008. – em [http://www.agassessment.org/docs/10505\\_HumanHealth.pdf](http://www.agassessment.org/docs/10505_HumanHealth.pdf)

IAASTD, sd – Towards multifunctional agriculture for social environmental and economic sustainability [http://www.agassessment.org/docs/10505\\_Multi.pdf](http://www.agassessment.org/docs/10505_Multi.pdf)

IBGE 2011. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Pesquisa Mensal de Previsão e acompanhamento das Safras Agrícolas no Ano Civil. Rio de Janeiro, v.24.n05. 82 p (maio de 2011)

IBGE, 2012 -Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA). Rio de Janeiro v.25 n.02 p.1-88 fev.2012

IPEA –Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2010.Sustentabilidade Ambiental no Brasil: Biodiversidade, Economia e Bem Estar Humano. Brasília, 640 p.

JIRAUNGKOORSKUL et al. Biochemical and histopathological effects of glyphosate herbicide on Nile tilapia. *Environmental Technology* 18(4):260-7., 2003.

JOHNSON K.S. *et al.*, 1995. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* to 3 nontarget lepidoptera in-fields studies. *Environmental Entomology*, 24 (2): 288-297.

JUNG, H.G. and C.C. SCHEAFFER. Influence of Bt transgenes on Cell Wall lignification and Digestibility of Maize Stover for Silage.. *Crop science* 44:1781-1789 (2004)

KOSKELLA, J. & Stotzky, G. 1997. Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Applied and Environmental Microbiology* 63(9): 3561-3568.

LEE, L., Saxena, D. & Stotzky, G. 2003. Activity of free and clay-bound insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* against the mosquito *Culex pipiens*. *Applied and Environmental Microbiology* 69(7): 4111-4115.

LYNCH, J.M. and Panting, L.M. 1980. Cultivation and the soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, **12**: 29-33

McARDLE, B. & ANDERSON, M.J. Variance heterogeneity, transformations, and models of species abundance: a cautionary tale. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61: 1294-1302. (2004).

MANLY, B.F.J. 2007. Randomization, bootstrap, and Monte Carlo methods in biology. 3. Chapman & Hall/ CRC, Boca Raton, Fla.

MATSUMURA, N. *et al.* 2001. Glufosinate ammonium induces convulsion through N-methyl-D-aspartate receptors in mice. *Neurosci. Lett.*, **304**, 123-125.

MATTHEWS, D. Jones, H., Gans, P. Coates, St & Smith, L.M.J. (2005). Toxic secondary metabolite production in genetically modified potatoes is response to stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 10.1021/jf055058r

MELO, ADRIANO SANCHES. O que ganhamos “confundindo” riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade? *Biota Neotropica*, vol 8. N3 jul/set 2008. Pp21-27.

MESNAGE, R. , Clair, E. , Gress, S. , Then, C. , Székács, A. and Séralini, G.-E., 2012, Cytotoxicity on human cells of Cry1Ab and Cry1Ac Bt insecticidal toxins alone or with a glyphosate-based herbicide, *Journal of Applied Toxicol.* 2012. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jat.2712/abstract>

MMA, 2008. Nova Lista da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Disponível em <http://www.mma.gov.br/port/sbf/fauna/index.cfm>

MUELLER, C.C. Os Economistas e as relações entre o sistema econômico e o meio ambiente. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2007.

PALM *et al.*, 1996. Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* g-endotoxin. *Can. J. Microbiol.*, 42, 1258-1262.

PASINI, Amarildo; PARRA, José R.P. ; LOPES, Janaína M. Dieta artificial para criação de *Doru luteipes* (Scudder) (Dermaptera: Forficulidae), predador da lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotrop. Entomol.* vol.36 no.2 Londrina. Mar./Apr. 2007. disponível em <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2007000200020>

PAVONE, V.; GOVEN, J. GUARINO, R., 2011. From risk assessment to in-context trajectory evaluation – GMOs and their social implications. *Environmental Sciences Europe*, 23:4

PENGUE, W.A. Agricultura industrial y transnacionalización en América Latina. La transgénesis de un continente? FAO, PNUMA. 2005, 220p.

RAMIREZ-ROMERO, R., Desneux, N., Decourtye, A., Chaffiol, A. and Pham-Delegue, M. H. (2008). Does Cry1Ab protein affect learning performances of the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae)? *Ecotoxicol. Environ. Safety* 70, 327-333

RELYEA, R.A 2005. The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological Applications*, 15(2):618–627.

ROSI\_MARSHALL, E. J. ; J.L. Tank; T. V. Royer; M.R. Whiles; M. Evans-White; C.Chambers; N. A. Griffiths; J.Pokelsek and M.L. Stephen (2007). *Toxins in transgenic crop by products may affect headwater stream ecosystems*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 16204-16208

ROSI\_MARSHALL, E. J., Tank, J. L., Royer, T.V. & Whiles, M.R. , 2008 – Reply to Beach et al. and Parrott: Study indicates Bt Corn may affect caddisflies. *PNAS*, Feb 19, 2008. Vol 105 . N7, E11, 2008.

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

SAXENA, D., Flores, S. & Stotzky, G. 1999. Transgenic plants: Insecticidal toxin in roots exudates in Bt corn, *Nature*, vol. 402, p. 480.

SAXENA, D. & Stotzky, G. 2001a. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1225-1230.

SAXENA, D., S. Flores and G. Stotzky. 2002a. Bt toxin is released in root exudates from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events. *Soil Biol. Biochem.* 34:133-137.

SAXENA, D., S. Flores and G. Stotzky. 2002b. Vertical movement in soil of insecticidal Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis*. *Soil Biol. Biochem.* 34:111-120

SÉRALINI, GE, Cellier D, Spiroux J: New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol.* may 2007, 52(4):596-602.

SÉRALINI, GE, Spiroux J, Cellier D, Sultan C, Buiatti M, Gallagher L, Antoniou M, Dronamraju KR: How subchronic and chronic health effects can be neglected for GMOs, pesticides or chemicals. *Int J Biol Sci* 2009, 5:438-443.

SÉRALINI, Gilles-Eric, Robin Mesnage, Emilie Clair, Steeve Gress, Joël Spiroux de Vendômois, Dominique Cellier. Genetically modified crops safety assessments: present limits and possible improvements. *Environmental Sciences Europe* 2011, 23:10-20.

SÉRALINI, Gilles-Eric, Emilie Clair, Robin Mesnage,, Steeve Gress, Jnicolas Defarge, Manuela Malatesta, Didier Hennequin, Joël Spiroux de Vendômois. Long Term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant modified maize. *Food and Chemical Toxicology* (2012).<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.005>

SPIROUX, J, Roullier F, Cellier D, Séralini GE: A comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health. *Int J Biol Sci* 2009, 5:706-726.

SQUIRE, G.R., HAWES, C., BEGG, G.S. & YOUNG, M.W. 2009. Cumulative impact of GM herbicide-tolerant cropping on arable plants assessed through species-based and functional taxonomies. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 16: 85-94.

STOTZKY G.,2003. Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*, especially from transgenic plants. *Laboratory of Microbial Ecology, Department of Biology, New York University, New York, NY 10003, USA*

STRANDBERG, B., BRUUS PEDERSEN, M. & ELMEGAARD, N. 2005. Weed and arthropod populations in conventional and genetically modified herbicide tolerant fodder beet fields. *Agri., Ecosystems & Environm.* 105, 243-253.

TABASHNIK, Bruce E; Gassman, Aaron J.; Crowder, david W & Carrière, Yves reply a . Moar, Willam; Roush, Rick; Shelton, Anthony; Ferré, Juan; MacIntosh, Susan; Leonard,

B.Rogers and Abel, Craig. Field-evolved resistance to Bt Toxins. *Nature Biotechnology*. Vol 26 number 10, October 2008

TAPP H and STOTZSKY G 1995. Insecticidal activity of the toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 1786-1790.

TAPP H and STOTZSKY G (1998): Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil. *Soil Biol. Biochem.* 30 (4): 471-476.

TARAFDAR, Jagadish C., Rathore, Indira and Shiva, Vandana. Effect Of Bt-Transgenic Cotton On Soil Biological Health. *Applied Biological Research* 14 (1): 00-00, 2012.

THEN, C. & LORCH, A. (2008) A simple question in a complex environment: How much Bt toxin do genetically engineered MON810 maize plants actually produce?: in Breckling B, Reuter H, Verhoeven R (eds) (2008) Implications of GM-Crop Cultivation at Large Spatial Scales., *Theorie in der Ökologie* 14. Frankfurt, Peter Lang, <http://www.gmls.eu/index.php?contact=ja>

TORRES, P.S; QUAGLINO, M.B. & PILLAR, V.D. Properties of a randomization test for multifactor comparisons of groups. *Journal of Statistical Computation and Simulation*. Vol. 80, n. 10, October 2010, 1131-1150.

TRAAVIK, T. (2008) GMOs and their unmodified counterparts: substantially equivalent or different? in: Breckling, B., Reuter, H. & Verhoeven, R. (2008) Implications of GM-Crop Cultivation at Large Spatial Scales, *Theorie in der Ökologie* 14. Frankfurt, Peter Lang.

TREVISAN, H.; CARVALHO, A. G.; AGUIAR, A.; MADEIRA, B.; ABREU, I. Pólen do milho transgênico - Possível efeito ecológico nas colônias de abelhas. *Agrotec.* n. 01, p. 80-81, 2012

TURRINI, A., Sbrana, C., Nuti, M.P., Pietrangeli, B.M. & Giovannetti, M. 2004. Development of a model system to assess the impact of genetically modified corn and aubergine plants on arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 266: 69-75.

VELIMIROV, A.; Binter, C. Univ. Prof. Jürgen Zentek, Biological effects of transgenic maize NK 603 X MON 810 fed in long term reproduction studies in mice. *Veterinary Univ. of Vienna, Austria*, 2008. <http://www.bmgfj.gv.at/cms/site/standard.html?channel=CH08110&doc=cms1226492832306>

WATANABE, T. , 1997. Apoptosis induced by glufosinate ammonium in the neuroepithelium of developing mouse embryos in culture. *Neuroscientific Letters*, Vol. 222, No. 1, pp.17-20.

WATANABE, T. and T. Iwase, 1996. Development and dymorphogenic effects of glufosinate ammonium on mouse embryos in culture. *Teratogenesis carcinogenesis andmutagenesis*, Vol. 16, No. 6, pp. 287-299.

WILLIAMS, B. K. & SEMLITSH R.D., 2010. Larval Responses of Three Midwestern Anurans to Chronic, Low-Doses Exposures of Four Herbicides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 58:819-827

WOLFENBARGER LL, Naranjo SE, Lundgren JG, Bitzer RJ, Watrud LS (2008) Bt Crop Effects on Functional Guilds of Non-Target Arthropods: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 3(5): e2118. doi:10.1371/journal.pone.0002118

ZWAHLEN, C., Hilbeck, A. & Nentwig, W. 2003. Degradation of the Cry1Ab protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. *Molecular Ecology* 12(3): 765-775.