

## PARECER TÉCNICO Nº 1.100/2007

**Processo nº:** 01200.002995/1999-54

**Requerente:** Monsanto do Brasil Ltda.

**CNPJ:** 64.858.525/0001-45

**Endereço:** Av. Nações Unidas, 12901 Torre Norte – 7º e 8º andares CEP: 04578-000 – São Paulo – SP.

**Assunto:** Liberação Comercial de Milho Geneticamente Modificado

**Extrato Prévio:** Comunicado nº 91/1999, publicado no D.O.U. de 14 de outubro de 1999

**Reunião:** 105ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 16 de agosto de 2007

**Decisão:** DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação do pedido de Parecer Técnico para liberação comercial de milho geneticamente modificado resistente a insetos da ordem Lepidoptera (Milho Guardian, Evento MON810), bem como de todas as progênies provenientes do evento de transformação MON810 e suas derivadas de cruzamento de linhagens e populações não transgênicas de milho com linhagens portadoras do evento MON810, concluiu pelo seu DEFERIMENTO nos termos deste parecer técnico conclusivo.

A Monsanto do Brasil Ltda. solicitou à CTNBio Parecer Técnico para o livre registro, uso, ensaios, testes, semeadura, transporte, armazenamento, comercialização, consumo, importação, liberação e descarte de milho (*Zea mays*, L.) resistente a insetos da ordem Lepidoptera – Milho Guardian – Evento MON810. O milho Guardian derivado da linhagem MON810 apresenta, integrado em seu genoma, o gene *cry1Ab*, proveniente de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, que codifica a proteína Cry1Ab com efeito tóxico sobre insetos da ordem Lepidoptera (lagarta-do-cartucho, lagarta-da-espiga e lagarta-do-colmo). O processo de transformação consistiu no bombardeamento do material vegetal com partículas revestidas com o material genético de interesse, gerando a linhagem de milho MON810 que contém o gene *cry1Ab* de *B. thuringiensis* (classificado como organismo da classe de risco I de biossegurança). Os níveis de expressão da proteína Cry1Ab (também chamada Bt, de *Bacillus thuringiensis*) na linhagem MON810 foram avaliados em folhas jovens, grãos, planta toda e pólen. Os resultados mostraram os maiores níveis de expressão nas folhas (9,35 µg/g de peso seco), seguidos pela planta toda (4,31 µg/g de peso seco), grãos (0,31 µg/g de peso seco) e pólen (0,09 µg/g de peso seco). A proteína é tóxica somente para os insetos-alvo citados, especificamente para lepidópteros (lagartas) que possuem, exclusivamente, em seus intestinos receptores específicos para essa proteína. Os mamíferos não possuem esses receptores ou sítios de ligação e, portanto, os seres humanos, os animais e outros organismos não-alvo não são afetados pela proteína Bt, incluindo outros artrópodes e também inimigos naturais das pragas-alvo. A seqüência da proteína foi comparada com bancos de dados de proteínas com propriedades alergênicas, não tendo sido demonstrada homologia biologicamente significativa entre a proteína Cry1Ab completa e seqüências de proteínas com essas propriedades. Em virtude das características de digestibilidade da proteína Cry1Ab nos fluidos gástrico e intestinal, a probabilidade de que ela apresente ação alergênica é extremamente baixa. É improvável que o ADN exógeno possa se

Secretaria Executiva da CTNBio

SPO – Área 05 – Quadra 03 Bloco B – Térreo – Salas 08 a 10

Brasília, DF – CEP: 70610-200

Fones: (55)(61) 3411 5516 – FAX: (55)(61) 3317-7475

integrar ao genoma humano, pois a molécula de ADN é desintegrada durante o processo digestivo e dificilmente ficaria intacta para ser aproveitada pelas células do corpo humano ou animal. A introdução do gene *cry1Ab* não resultou em aparente alteração de importância nutricional, pois, os perfis dos principais nutrientes foram similares àqueles normalmente observados em outras variedades ou sob distintas condições de cultivo. Assim, os resultados sobre composição química e centesimal do milho MON810 estão de acordo com o Princípio da Equivalência Substancial. Em razão da menor infestação por insetos em relação às variedades tradicionais de milho, há menor crescimento de fungos associados, produtores de micotoxinas de importância patológica para seres humanos e animais e reduzindo, em consequência, de forma considerável, a contaminação e a presença dessas toxinas, contribuindo para melhorar a qualidade e o nível de segurança alimentar dos grãos. A possibilidade da planta transgênica, ou as progênes oriundas do cruzamento da linhagem MON810 com outras plantas de milho, se tornar espécie daninha é desprezível em virtude das características biológicas da espécie e ao fato de que o milho não sobrevive bem sem a intervenção do homem. O milho é planta inteiramente domesticada e necessita do homem para sobreviver. Já que o evento introduzido no milho não tem relação com a reprodução da planta ou com sua interação com o ambiente, espera-se que o milho transgênico Bt tenha um comportamento ambiental semelhante ao do milho comum não havendo, portanto, qualquer possibilidade de que esse milho se transforme numa planta invasora ou daninha. *B. thuringiensis* é um microrganismo de solo e a exposição dos organismos vivos e do meio ambiente a essa bactéria ou a qualquer elemento extraído dela é um evento que ocorre abundantemente na natureza, não resultando em risco significativo para a microbiota do solo. Há muito tempo os agricultores, inclusive aqueles que têm preferência pela agricultura dita orgânica, usam essa bactéria espargida sobre as plantas para evitar que os lepidópteros as destruam. Resultados de vários estudos demonstraram que o milho MON810 não causa impacto negativo sobre a comunidade de organismos não-alvo avaliada. As informações indicam que as plantas transgênicas não diferem fundamentalmente dos genótipos de milho não transformado, à exceção da resistência a insetos da ordem Lepidoptera. O histórico de dez anos de uso seguro desta variedade transgênica no mundo aponta para grande acúmulo de informações científicas confiáveis que indicam ser esta variedade tão segura para o meio ambiente e para a saúde humana e animal quanto as variedades de milhos híbridos que vêm sendo utilizadas. Adicionalmente, não há evidência de reações adversas ao uso do milho Guardian. Por essas razões, não existem restrições ao uso deste milho ou de seus derivados seja para alimentação humana ou de animais. A coexistência entre cultivares de milhos convencionais (melhoradas ou crioulas) e cultivares transgênicas de milhos é possível do ponto de vista agrônomo <sup>(10, 29)</sup> e deve seguir o disposto na Resolução Normativa nº 4 da CTNBio. Conforme estabelecido no art. 1º da Lei 11.460, de 21 de março de 2007, "*ficam vedados a pesquisa e o cultivo de organismos geneticamente modificados nas terras indígenas e áreas de unidades de conservação*". No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que o pedido atende às normas e à legislação

pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

### **PARECER TÉCNICO DA CTNBio**

#### **I. Identificação do OGM**

Designação do OGM: Milho Guardian, Evento MON810

Requerente: Monsanto do Brasil Ltda.

Espécie: *Zea mays* - Milho

Característica Inserida: Resistência a insetos da ordem Lepidoptera

Método de introdução da característica: Método de bombardeamento de partículas

Uso proposto: produção de silagem e grãos para consumo humano e animal do OGM e seus derivados.

#### **II. Informações Gerais**

*Zea mays* L., o milho, é uma espécie pertencente à tribo Maydae, que está incluída na sub-família Panicoidae, família Graminea (Poacea). Os gêneros pertencentes à tribo Maydae incluem o *Zea* e o *Tripsacum* no Hemisfério Ocidental. O milho é uma espécie separada dentro do sub-gênero *Zea*, com número cromossômico  $2n = 20, 21, 22, 24$  <sup>(15)</sup>. A espécie silvestre mais próxima do milho é o teosinte, encontrado no México e em alguns locais da América Central, onde pode cruzar com o milho cultivado em campos de produção. O milho cultivado pode ser também cruzado com o gênero mais distante *Tripsacum*. Esse cruzamento ocorre com grande dificuldade e resulta em progênie macho-estéril.

O milho tem um histórico de mais de oito mil anos nas Américas. De todas as plantas cultivadas, provavelmente é a que possui a maior variabilidade genética. Existem, hoje, identificadas cerca de 300 raças de milho e, dentro de cada raça, milhares de cultivares. O milho é, hoje, a espécie cultivada que atingiu o mais elevado grau de domesticação e só sobrevive na natureza quando cultivado pelo homem <sup>(6)</sup>. Normalmente, a manutenção dessa variabilidade genética tem sido feita através de armazenamento individualizado, em bancos de germoplasma, em condições controladas de umidade e temperatura. No Brasil e no mundo existem vários bancos de germoplasmas. A Embrapa possui dois bancos de germoplasma, um na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília-DF, e outro na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas. O milho é cultivado comercialmente em mais de 100 países, com uma produção total estimada em 705 milhões de toneladas por ano.

O milho é uma das mais importantes fontes de alimento no mundo e é insumo para a produção de uma ampla gama de produtos. Na cadeia produtiva de suínos e aves consomem-se aproximadamente 70 a 80% do milho produzido no Brasil.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho com uma produção de aproximadamente 35 milhões de toneladas no ano de 2005, atrás somente dos Estados Unidos da América (282 milhões de toneladas) e da China (139 milhões de toneladas) <sup>(19)</sup>. No Brasil, o milho é plantado basicamente em duas safras (plantio de verão e a safrinha) e é cultivado em praticamente todo o território nacional, sendo que 92% da produção concentra-se nas regiões Sul (47% da produção), Sudeste (21% da produção) e Centro Oeste (24% da produção) <sup>(12)</sup>.

Nos últimos anos, os insetos têm-se tornado pragas limitantes na cultura do milho no Brasil, em particular insetos da ordem Lepidoptera (lagarta-do-cartucho, lagarta-da-espiga e lagarta-do-colmo). Estima-se que elas possam causar danos de até 34% na produção de grãos de milho. Com o aumento da área cultivada com o milho na chamada “safrinha” (três milhões de hectares), fechando o ciclo de várias pragas e doenças, o problema se agravou. Em algumas áreas do Centro-Oeste brasileiro, são necessárias dezenas de pulverizações com inseticidas em um único ciclo da cultura.

O Brasil é o terceiro maior consumidor de defensivos agrícolas do mundo. Possuímos, hoje, 142 agrotóxicos registrados para milho, 107 só para lagartas. Já existem vários casos de resistência pelo uso constante e indiscriminado de inseticidas na cultura do milho no Brasil. Além disso, um dos fatores que mais afeta a saúde dos agricultores no Brasil é o uso de defensivos agrícolas, responsáveis pela intoxicação de um milhão de pessoas anualmente <sup>(2)</sup>.

O milho Guardian, evento MON810, consiste em uma proposta alternativa para o controle das lagartas, pragas da cultura do milho. Ela baseia-se na utilização de híbridos de milho derivados da linhagem MON810, geneticamente modificada para resistir ao ataque dessas lagartas. Para isso, foi inserido o gene *cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (Bt), linhagem HD-1, a mesma utilizada em formulações comerciais de *B. thuringiensis* de amplo uso na agricultura. O milho transgênico MON810 – Milho Guardian já é cultivado ou comercializado em 14 países (Argentina, Austrália, Canadá, China, União Européia, Japão, Coreia, Filipinas, México, África do Sul, Suíça, Taiwan, Uruguai e Estados Unidos da América). O evento foi desenvolvido com a introdução do gene *cry1Ab* de Bt em uma linhagem de milho, através do processo de biobalística. O evento expressa a proteína Cry1Ab, responsável pela morte das lagartas, durante todo o ciclo vegetal. Essa proteína é específica para insetos lepidópteros (lagartas), não possuindo efeito tóxico para dípteros (moscas, abelhas, e outros) ou coleópteros (besouros, joaninhas e outros) <sup>(1)</sup>. A proteína produzida no milho Bt é idêntica àquela encontrada na natureza ou em formulações para pulverizações disponíveis no mercado há mais de 40 anos. É importante ressaltar que variedades de milho contendo esta proteína têm sido utilizadas em vários países do mundo inexistindo informação de que híbridos de milho contendo genes *cry* tenham causado dano ao meio ambiente ou à saúde humana e de outros animais.

No Brasil, várias liberações no meio ambiente do milho Guardian foram conduzidas após aprovação da CTNBio em regiões representativas da cultura do milho, compreendendo os estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná, Goiás, Rio Grande do Sul, Distrito Federal, Santa Catarina e Bahia.

### III. Descrição do OGM e Proteínas Expressas

A linhagem de milho MON810 foi obtida através da transformação genética, metodologia de aceleração de partículas ou biobalística <sup>(26)</sup>, de plantas de milho do híbrido HI-II, resultado do cruzamento das linhagens públicas de milho A188 e B73, desenvolvidas nos Estados Unidos da América pela Universidade de Minnesota e pela Universidade do Estado de Iowa, respectivamente. De acordo com informações da empresa, os genótipos representam cerca de 50% de cada material. Estas plantas foram transformadas com os vetores PV-ZMBK07 e PV-ZMGT10, gerando a linhagem de milho MON810 que contém o gene *cry1Ab* de *B. thuringiensis* (classificado como organismo da classe de risco I de biossegurança).

*B. thuringiensis* é uma bactéria de solo, gram-positiva, inicialmente isolada no Japão por Ishiwata e descrita formalmente por Berliner em 1915. Esse microrganismo forma cristais de endotoxinas, proteínas com ação inseticida que atuam antes e durante a fase de esporulação do seu ciclo de vida. Atualmente, existem várias coleções no mundo que contêm milhares de isolados de *B. thuringiensis*, sendo as várias raças classificadas com base em seu espectro de ação, suas toxinas cristalinas e suas similaridades genéticas <sup>(14)</sup>.

O vetor PV-ZMBK07 contém o gene que codifica a endotoxina Cry1Ab e o vetor PV-ZMGT10 contém os genes *cp4-epsps* e *gox*. O gene *cry1Ab* presente no vetor PV-ZMBK07 foi colocado sob controle do promotor transcricional E35S (cerca de 0,6 kb). Foi ainda inserido um íntron de 0,8 kb proveniente do gene *hsp70* do milho entre o promotor e o gene *cry1Ab*. Esta inserção foi efetuada a fim de aumentar os níveis de expressão do transgene. A jusante do gene *cry1Ab* foi colocada a seqüência 3'-UTR (transcrita, mas não traduzida) de 0,26 kb da nopalina sintase, que contém o sinal de poliadenilação. A seqüência do gene *cry1Ab* é composta por 3468 nucleotídios e codifica uma proteína de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 (Cry1Ab) de 1156 aminoácidos. Para permitir níveis adequados de expressão em milho, a seqüência do gene foi modificada para ajustar o uso de códons e proporção A + T. Assim, a seqüência proteica não diferiu da obtida do *B. thuringiensis*.

A caracterização molecular foi realizada para identificar a presença dos vetores PV-ZMBK07 e PV-ZMGT10 no genoma das plantas de milho transformadas, além do número de cópias integradas ao genoma. A caracterização molecular da linhagem MON810 foi feita por *Southern Blot*, indicando a integração de uma cópia única do gene *cry1Ab* com o promotor 35S e o íntron de milho *hsp70*, sem qualquer vestígio de seqüências do vetor ou do gene *nptII*, de resistência a neomicina. Também foi constatada a ausência dos genes *gox* e *cp4-epsps* da construção no vetor PV-ZMGT10. A ausência

de seqüências adicionais na linhagem MON810 restringe a avaliação de segurança às implicações da presença do gene *cry1Ab*.

A estabilidade genética dos elementos presentes no vetor PV-ZMBK07 foi caracterizada a partir da realização de cruzamentos e avaliação da segregação das progênies derivadas da linhagem MON810. Os resultados indicaram a ocorrência de uma única inserção funcional, de acordo com a Genética Mendeliana. Segundo informações presentes no processo, o gene *cry1Ab* mostrou ser estável por sete gerações de cruzamentos com um de seus parentais recorrentes (B73) e por seis gerações de cruzamentos com uma linhagem não aparentada (Mo17). Estes dados também foram confirmados a partir de hibridizações com uma sonda formada por parte do gene *cry1Ab*.

O mecanismo de ação das toxinas Cry tem sido extensivamente estudado em lepidópteros, dípteros e coleópteros <sup>(25)</sup>. No pH alcalino dos intestinos dos insetos, os cristais da proteínas ingeridos se dissolvem e as pró-toxinas são ativadas pelas proteinases digestivas dos insetos <sup>(30)</sup>. O mecanismo de ação das proteínas Cry revelado por Broderick e colaboradores<sup>(9)</sup> indica que a toxina Cry permeabiliza o epitélio intestinal, permitindo às bactérias do trato digestivo contaminarem a hemolinfa, levando a um quadro de septicemia e morte da lagarta.

Os níveis de expressão da proteína Cry1Ab na linhagem MON810 foram avaliados em folhas jovens, grãos, planta toda e pólen. Os materiais foram coletados em seis locais nos Estados Unidos da América e os níveis de expressão da proteína foram avaliados por ELISA e Western blot. Os resultados mostraram os maiores níveis de expressão nas folhas (9,35 µg/g de peso seco), seguidos pela planta toda (4,31 µg/g de peso seco), grãos (0,31 µg/g de peso seco) e pólen (0,09 µg/g de peso seco). Posteriormente, foi efetuada a transferência do cassete de expressão contendo o gene *cry1Ab* para germoplasma tropical de milho. As primeiras introduções de materiais mais adaptados, ou em fase de adaptação, foram feitas no Brasil em 1998. Segundo a requerente, estas solicitações tinham por objetivo experimentar linhagens derivadas de MON810 no Brasil e prosseguir a introgressão do gene nos programas de melhoramento. Para confirmar a introgressão do cassete de expressão nas linhagens tropicais, foi realizado um experimento de Southern Blot que identificou a presença do transgene nos genótipos amostrados.

#### **IV. Aspectos relacionados à Saúde Humana e dos Animais**

A avaliação de segurança de alimentos derivados de matérias-primas geneticamente modificadas é baseada na análise de risco, metodologia científica que compreende as etapas de avaliação, gerenciamento e comunicação de risco. Na etapa de avaliação de risco é buscada a caracterização qualitativa e quantitativa dos potenciais efeitos adversos, tendo como balizador o conceito da equivalência substancial, para identificação de eventuais diferenças entre o novo alimento e o seu correspondente convencional.



Para avaliar a segurança de uma matéria-prima alimentar geneticamente modificada ou sua equivalência ao alimento convencional, é recomendável que quatro elementos principais sejam analisados mais detidamente: (1) a variedade parental, ou seja, a planta que deu origem à nova matéria-prima geneticamente modificada; (2) o processo de transformação, incluindo a caracterização da construção utilizada e do evento resultante; (3) o produto do gene inserido e potencial toxicidade e alergenicidade e; (4) a composição da nova variedade resultante da transformação genética. O conjunto de dados dessas análises deve permitir a identificação e caracterização dos potenciais efeitos adversos associados com o consumo da nova matéria-prima, subsidiando as etapas de gerenciamento e comunicação de risco.

*Z. mays* é uma espécie bem caracterizada, havendo um sólido histórico de segurança para consumo humano. No processo é apresentado um volume considerável de informações, abrangendo a origem, domesticação, identidade, taxonomia, morfologia, genética, hibridação e cruzamento, que refletem o profundo grau de conhecimento acerca dessa espécie.

Culturas de *B. thuringiensis* estão registradas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA sob diferentes formulações para aplicação em 30 tipos de culturas de vegetais para uso alimentar. Estão incluídas na classificação toxicológica do grupo IV e não há limite máximo de resíduo e intervalo de segurança determinados <sup>(3)</sup>.

No processo, é mencionado que a seqüência do gene *cry1Ab* de *B. thuringiensis* foi modificada para proporcionar alta expressão em milho sem, contudo, modificar a seqüência de aminoácidos. Essa alteração não implica em risco aumentado, por se tratar de variação no repertório de bases comuns ao código genético dos organismos.

O processo de transformação consistiu no bombardeamento do material vegetal com partículas revestidas com o material genético de interesse. Uma vez que esse é um processo físico de transferência de moléculas de ADN, que não conta com intermediação de qualquer agente biológico, e é realizado sob condições de assepsia, são praticamente desprezíveis as chances de que moléculas de ADN que não aquelas da construção gênica presente nas partículas sejam transferidas para as células vegetais.

A proteína Cry1Ab é uma  $\delta$ -endotoxina, produzida por *B. thuringiensis* que apresenta atividade específica sobre o sistema digestivo de algumas famílias de insetos. Para sua atividade, a proteína deve ser ingerida pelos insetos, cujo pH estomacal é capaz de solubilizar a proteína. Esta, sob a ação de proteases, se transforma na forma ativada que se liga a receptores específicos de alta afinidade presentes em insetos e ausentes em mamíferos.

A proteína é tóxica somente para os insetos-alvo citados, especificamente para lepidópteros (lagartas), os quais possuem, no seu intestino, receptores específicos para essa proteína. Mamíferos não possuem tais sítios de ligação e, portanto, seres humanos, animais e outros organismos não-

alvo não são afetados pela proteína Bt, incluindo outros artrópodes e também inimigos naturais das pragas-alvo<sup>(11, 18, 33, 38, 42)</sup>.

Foram conduzidos estudos para avaliar a toxicidade do milho MON810 e da proteína Cry1Ab. Codornas foram alimentadas com grãos de milho da linhagem MON810 com até 10% do peso de farelo de grãos integrais de milho na dieta, não tendo sido observados efeitos adversos ou tóxicos. Sanden e colaboradores<sup>(37)</sup> concluíram ser o milho MON810, adicionado a 12% na ração de peixes, tão seguro quanto as variedades não transgênicas, avaliando parâmetros do trato intestinal de salmões do Atlântico. Os estudos de segurança alimentar para mamíferos foram realizados com a proteína expressa em *E. coli* que se mostrou química e funcionalmente equivalente à expressa na linhagem MON810, bem como em uma formulação do praguicida microbiano (DIPEL) contendo *B. thuringiensis*. Estudos de toxicidade aguda oral para camundongos demonstraram que o nível atingido, sem efeitos observados, foi de 4000 mg/Kg de peso corpóreo tendo sido proposta uma DL<sub>50</sub> superior a este valor. Um estudo recentemente publicado que avaliou a toxicidade sub-crônica (90 dias) do milho Guardian em ratos demonstrou que a adição de milho MON810 em níveis de 11% e 33% em dietas balanceadas não acarretou qualquer alteração nos animais alimentados com a variedade geneticamente modificada quando comparada com a linhagem não modificada<sup>(24)</sup>. Shimada e colaboradores<sup>(39)</sup> demonstraram a ausência de toxicidade da proteína Cry1Ab sobre cultura de hepatócitos isolados de bovinos sugerindo que a proteína tem baixa toxicidade aguda para células de mamíferos.

A proteína Cry1Ab não apresenta característica de alergenicidade, além de ser degradada no aparelho gastrointestinal de mamíferos. Dados disponíveis na literatura<sup>(41)</sup> têm indicado digestibilidade normal para as variedades de milho transgênico liberados para consumo humano. Okunuki e colaboradores<sup>(34)</sup> argumentam que a alergenicidade da proteína, se houver, deva ser desprezível tendo em vista as características de digestibilidade da proteína Cry1Ab em fluidos gástrico e intestinal. Estes autores demonstraram ainda que, após aquecimento, a degradação é mais rápida, o que sugere uma menor concentração da proteína em alimentos à base de milho que sejam aquecidos durante o processamento.

A seqüência da proteína foi comparada com bancos de dados de proteínas com propriedades alergênicas. Não foi demonstrada homologia biologicamente significativa entre a proteína Cry1Ab completa e seqüências de proteínas com estas propriedades conhecidas à época da apresentação deste processo.

Para verificar o potencial alergênico de proteínas extraídas, entre outros, do milho transgênico MON810 e da proteína Cry1Ab, Batista e colaboradores<sup>(7)</sup> avaliaram, por meio de testes cutâneos, duas populações sensíveis de indivíduos: crianças com alergia inalatória e a alimentos e indivíduos com asma-rinite. Além disto, avaliaram os níveis de IgE em soro de indivíduos alérgicos a



milho e a proteínas transgênicas puras (Cry1Ab). Os autores concluíram que os transgênicos avaliados quanto ao potencial alergênico são seguros. Resultados semelhantes foram observados por Nakajima e colaboradores <sup>(31)</sup> em pacientes com alergia a alimentos. Nestes pacientes, não foram encontrados níveis significativos de IgE específicos contra Cry1Ab em soro.

A análise da composição química da variedade obtida por transgenia, principalmente dos níveis de seus nutrientes e de eventuais compostos tóxicos naturalmente presentes, visa garantir que essa nova variedade seja tão nutritiva e segura quanto seu equivalente convencional. Desse modo, serve para confirmar que os efeitos intencionais da modificação não comprometeram sua segurança nem resultaram em efeitos não-pretendidos. Os dados internacionais apresentados no processo englobam a composição centesimal, perfil de aminoácidos e de ácidos graxos da variedade geneticamente modificada e de variedades parentais cultivadas, sob as mesmas condições, nos Estados Unidos (1994), Itália e França (1995). Em linhas gerais, para todos os parâmetros analisados, não houve diferença significativa entre a variedade geneticamente modificada e sua respectiva contraparte convencional, ou as diferenças estiveram dentro da variabilidade normalmente observada em milho. Desse modo, é possível considerar que a introdução do gene *cry1Ab* não resultou em aparente alteração de importância nutricional, pois os perfis dos principais nutrientes foram similares àqueles normalmente observados em outras variedades ou sob distintas condições de cultivo.

No Brasil, foram realizadas análises de composição centesimal de dois híbridos derivados da linhagem MON810, C806-Guardian e C901-Guardian, cultivados nos municípios de Campo Novo dos Parecis (MT), Uberaba (MG) e Pirassununga (SP) na safra 1998-1999. De modo similar ao que foi observado para as amostras de milho da linhagem MON810 cultivados no exterior, não houve diferença significativa em relação à variedade convencional ou as diferenças estiveram dentro da variabilidade normalmente observada em milho. Os dados sugerem que, também nas plantas cultivadas no Brasil, a introdução do gene *cry1Ab* não resultou em aparente alteração nutricional. Assim, os resultados sobre composição química e centesimal do milho MON810 estão de acordo com o Princípio da Equivalência Substancial que afirma que, se um alimento for modificado por qualquer técnica e tiver a mesma composição química e física, textura, valor nutricional e não apresentar substância tóxica diferente do alimento original, esses alimentos são equivalentes substancialmente e, portanto, não deveriam ser diferenciados ou segregados. Segundo o Codex Alimentarius, o Princípio da Equivalência Substancial é um elemento chave no processo de avaliação da inocuidade de um alimento novo em relação ao seu homólogo convencional <sup>(17)</sup>.

É relevante considerar que a proteção dada aos grãos pela toxina Bt contra os danos das lagartas na espiga reduz drasticamente a incidência de grãos ardidos. A presença de grãos ardidos está associada à produção de micotoxina e é um sério problema no milho. Assim, a menor infestação por insetos observada traz como consequência um menor crescimento de fungos

produtores de micotoxinas de importância patológica para humanos e animais, reduzindo consideravelmente a contaminação e, conseqüentemente, a presença destas toxinas <sup>(22, 23, 28, 35, 43, 44)</sup>, contribuindo para melhorar a qualidade e o nível de segurança alimentar dos grãos.

## V. Aspectos Ambientais

O milho é uma planta monóica: um único indivíduo contém flores masculinas e femininas localizadas separadamente. As plantas de milho são plantas de fecundação cruzada e largamente polinizadas com ajuda do vento, insetos, gravidade e outros. A introdução dos elementos gênicos anteriormente descritos não alterou as características reprodutivas da planta. Portanto, as mesmas chances de fecundação cruzada que ocorrem entre híbridos e linhagens de milho convencionais - não geneticamente modificadas - ocorrerá entre plantas do evento MON810 e outras plantas de milho.

O fluxo gênico no milho pode ocorrer por meio da transferência de pólen e da dispersão de sementes. A dispersão de sementes é facilmente controlada, uma vez que a domesticação do milho eliminou os mecanismos ancestrais de dispersão de sementes e o movimento de pólen é o único meio efetivo de escape de genes de plantas de milho.

Estudos sobre dispersão de pólen de milho têm sido conduzidos, sendo que alguns deles mostram que o pólen de milho pode deslocar-se a longas distâncias. Porém, a maioria do pólen liberado é depositada próxima à cultura, com taxa de translocação muito baixa fora da cultura fonte. O agente de polinização predominante no milho é o vento e a distância que o pólen viável pode percorrer depende dos padrões de vento, umidade e temperatura. Luna e colaboradores <sup>(27)</sup> avaliaram a distância de isolamento e o controle de pólen, e demonstraram que a polinização cruzada ocorre em uma distância máxima de 200 m e nenhuma polinização cruzada aconteceu em distâncias iguais ou superiores a 300 metros em relação às fontes de pólen, em condição de não despendimento. Os resultados indicam que a viabilidade do pólen é mantida por 2 h e que a polinização cruzada não foi observada em distâncias de 300 metros da fonte de pólen.

Comparando-se as concentrações a 1 m da cultura fonte sob ventos baixos a moderados estimou-se que, aproximadamente, 2% de pólen são anotados a 60 m, 1,1% a 200 m e 0,75-0,5% a 500 m de distância. A 10 m de um campo, em média, o número de grãos de pólen por unidade de área é dez vezes menor que o observado a 1 m da borda. Portanto, se as distâncias estabelecidas de separação desenvolvidas para produção de sementes de milho são observadas, espera-se que a transferência de pólen às variedades adjacentes seja minimizada, sendo improvável a presença de materiais genéticos com resistência a insetos.

O milho é uma planta alógama e anual, polinizada predominantemente pelo vento, e as distâncias que o pólen pode viajar dependem do padrão do vento, umidade e temperatura. O pólen de milho se dispersa livremente nas imediações da área cultivada com essa gramínea, podendo

atingir os estilo-estigmas do mesmo genótipo ou de genótipos diferentes e, em condições adequadas, inicia a sua germinação, originando o tubo polínico que promove a fecundação do óvulo dentro do período médio de 24 horas.

A possibilidade da planta transgênica se tornar uma espécie daninha, bem como o cruzamento da linhagem MON810 com outras plantas de milho, originar uma planta daninha é desprezível, em virtude das características biológicas da espécie e ao fato de que o milho não sobrevive bem sem a intervenção do homem, resultado da seleção feita durante a sua evolução. O milho é a espécie que atingiu o mais elevado grau de domesticação entre as plantas cultivadas, tendo perdido suas características de sobrevivência na natureza como, por exemplo, a eliminação da degrana. Assim, o milho é uma planta incapaz de sobreviver em condições naturais, quando não assistida tecnicamente. Neste sentido, é esperado que o milho transgênico Bt tenha um comportamento ambiental semelhante ao milho comum não havendo, portanto, qualquer possibilidade de que o milho se transforme numa planta invasora ou daninha.

A possibilidade do gene *cry1Ab* da planta transgênica passar para outros organismos, como por exemplo, microrganismos do solo é praticamente nula<sup>(32, 40)</sup>. Uma vez que *B. thuringiensis* é um microrganismo de solo, a exposição dos organismos vivos e do meio ambiente a essa bactéria ou a qualquer elemento extraído dela é um evento que ocorre abundantemente na natureza, não resultando em risco significativo para a microbiota do solo.

Outra possibilidade remota é a transferência do ADN exógeno para o ser humano que consumisse o milho MON810. Dependendo da composição da ingesta, a quantidade de ADN ingerida por uma pessoa varia de 0,1 a 1,0 g por dia. O gene que foi inserido no milho MON810 representa uma quantidade 20.000 vezes menor do que essa. Além disso, a molécula de ADN é desintegrada durante a digestão impossibilitando que ela seja absorvida intacta pelas células do intestino, da mesma forma que homens e animais não absorvem o ADN de bilhões de bactérias que vivem no intestino, ou de qualquer alimento não transgênico.

Adicionalmente, formulações comerciais de *B. thuringiensis* contendo essas proteínas têm sido utilizadas no Brasil e em outros países para o controle de algumas pragas agrícolas há mais de 40 anos. Em função de suas propriedades inseticidas, produtos em *sprays* baseados em Bt são os mais eficazes bioinseticidas comerciais usados para proteção de lavouras e florestas e começam a substituir as medidas de controle convencionais que apresentam limitações práticas<sup>(14)</sup>. Atualmente, biopesticidas baseados na toxina Bt representam cerca de 90% do mercado mundial de biopesticidas, sendo amplamente utilizados como uma alternativa aos inseticidas químicos em termos de segurança a organismos não-alvo e quando ocorre o desenvolvimento de resistência a inseticidas químicos<sup>(36)</sup>.

A segurança da proteína Cry1Ab foi testada para os seguintes organismos: abelhas (*Apis mellifera* L.) em larvas e adultos, polinizador benéfico; crisopídeo (*Cryperla carnea*) predador

benéfico; um himenóptero (*Brachymeria intermedia*), inseto benéfico parasitóide da mosca doméstica; a joaninha (*Hippodamia convergens*), inseto predador benéfico; minhocas (*Esenia fétida*); microcrustáceo de ambientes aquáticos, *Daphnia magna*. Estudos de campo realizados no Brasil, sobre as populações de insetos presentes em plantações de milho transgênico derivado da linhagem MON810, mostraram que a presença de inimigos naturais e de insetos não-alvo, nestes campos, é semelhante. Os ensaios de campo feitos para a avaliação da dinâmica populacional de insetos como tesourinhas, joaninhas (Coleoptera), sirfídeos (Diptera), percevejos (Hemiptera) não demonstraram impactos significativos na entomofauna das regiões estudadas.

O milho MON810 também não apresentou efeito sobre a dinâmica populacional das espécies predominantes de aranhas e insetos benéficos de diferentes guildas tróficas, incluindo pragas não-alvo e insetos benéficos (Carabidae, Coccinellidae, Chrysopidae, Hemerobiidae, Syrphidae, Tachinidae e Apidae). A população de abelhas, *A. mellifera*, foi maior nas áreas avaliadas. Esse resultado pode assim ser explicado: (1) a proteína Cry1Ab não age no aparelho digestivo das abelhas por ser específico somente para algumas espécies de lepidópteros; (2) as abelhas se alimentam livremente de pólen pelo menor uso de inseticidas nas plantações de milho MON810.

Duas teses de doutorado <sup>(20, 21)</sup> analisaram os possíveis impactos causados pelo milho MON810 sobre os diferentes grupos taxonômicos representativos da biodiversidade de agroecossistemas brasileiros onde o plantio de milho é realizado. A principal conclusão foi de que o milho MON810 não causa impacto negativo sobre a comunidade de insetos avaliada.

Dados disponíveis na literatura <sup>(4, 5, 8, 13)</sup> corroboram os resultados encontrados e também evidenciam que dentre as vantagens de utilização do gene *cry* em relação a outros métodos de controle de lepidópteros estão a ausência de efeitos negativos em insetos não-alvo, mamíferos e seres humanos, a alta especificidade e eficiência contra os insetos-alvo, a degradabilidade ambiental e a segurança de manipulação e utilização.

Deve-se ressaltar que qualquer medida de controle de insetos que permita a redução na utilização de defensivos químicos deve ser considerada uma prioridade sob o ponto de vista de segurança ambiental e nutricional.

## VI. Restrições ao uso do OGM e seus derivados

Pareceres técnicos referentes ao desempenho agrônomo concluíram que há equivalência entre plantas transgênicas e convencionais. Assim, as informações indicam que as plantas transgênicas não diferem fundamentalmente dos genótipos de milho não transformado, à exceção da resistência a insetos da ordem Lepidoptera. Adicionalmente, não há evidência de reações adversas ao uso do milho Guardian. Por essa razão, não existem restrições ao uso deste milho ou de seus derivados seja para alimentação humana ou de animais.

O fluxo gênico vertical para variedades locais (chamados milhos crioulos) de polinização aberta é possível e apresenta o mesmo risco causado pelos genótipos comerciais disponíveis no mercado (80% do milho convencional plantado no Brasil provêm de sementes comerciais que passaram por um processo de melhoramento genético). A coexistência entre cultivares de milhos convencionais (melhoradas ou crioulas) e cultivares transgênicas de milhos é possível do ponto de vista agrônômico <sup>(10, 29)</sup> e deve seguir o disposto na Resolução Normativa nº 4 da CTNBio.

#### **VII. Considerações sobre particularidades das diferentes regiões do País (subsídios aos órgãos de fiscalização):**

Conforme estabelecido no art. 1º da Lei 11.460, de 21 de março de 2007, "*ficam vedados a pesquisa e o cultivo de organismos geneticamente modificados nas terras indígenas e áreas de unidades de conservação*".

#### **VIII. Conclusão**

Considerando que a variedade Guardian de milho (*Zea mays*) pertence a espécie bem caracterizada e com sólido histórico de segurança para consumo humano e que o gene *cry1Ab* introduzido nessa variedade codifica proteína tóxica exclusivamente para larvas de insetos da ordem Lepidoptera, sendo inócua para seres humanos.

Considerando que a construção gênica utilizada para inserir esse gene em milho resultou na inserção estável de uma cópia funcional de *cry1Ab*, a qual proporcionou resistência das plantas ao ataque de lagartas.

Considerando que dados de composição centesimal, resultantes de análises de plantas cultivadas nos Estados Unidos da América, Itália, França e Brasil, não apontaram diferenças significativas entre as variedades geneticamente modificadas e as convencionais, sugerindo a equivalência nutricional entre elas.

Considerando ainda que:

1. O milho é a espécie que atingiu o mais elevado grau de domesticação entre as plantas cultivadas, sendo incapaz de sobreviver na natureza sem intervenção humana.
2. Não há no Brasil espécies silvestres com que o milho possa se inter cruzar, já que a espécie silvestre mais próxima ao milho é o teosinte, encontrado apenas no México e em alguns locais da América Central, onde pode cruzar com o milho cultivado em campos de produção.
3. A proteína Cry1Ab foi detectada em baixos níveis nos tecidos analisados e apresentou grande suscetibilidade à digestão em simulados de fluidos gástricos, não demonstrando toxicidade aguda em mamíferos ou similaridade com alérgenos conhecidos.

4. A menor infestação de lagartas da espiga observada nas culturas transgênicas resulta em menor número de grãos danificados e, conseqüentemente, em menor crescimento de fungos produtores de micotoxinas de importância patológica para seres humanos e animais, reduzindo consideravelmente a contaminação e, conseqüentemente, a presença destas toxinas, contribuindo para melhorar a qualidade e o nível de segurança alimentar dos grãos.
5. A modificação genética introduzida no evento MON810 não resultou em diferenças importantes de composição química relativa a nutrientes, estando dentro da faixa de variação normal entre as variedades convencionais.
6. A molécula de ADN é um componente natural dos alimentos, não apresentando nenhuma evidência que esta molécula possa ter efeito adverso ao homem quando ingerida em alimentos em quantidades aceitáveis (nenhum efeito tóxico direto).
7. Não existe evidência alguma que genes intactos de plantas possam ser transferidos e funcionalmente integrados no genoma humano ou de outros mamíferos expostos a este ADN ou alimentos fabricados com estes elementos <sup>(16)</sup>.
8. A requerente respondeu a todos os questionamentos postulados na Instrução Normativa nº 20 da CTNBio e que nenhum dos quesitos indicam que este milho possa apresentar efeitos adversos na alimentação humana ou animal.
9. A possibilidade da planta transgênica se tornar uma espécie daninha, bem como o cruzamento da linhagem MON810 com outras plantas de milho, originar uma planta daninha é desprezível.
10. *B. thuringiensis* é um microrganismo de solo e a exposição dos organismos vivos e do meio ambiente a essa bactéria ou a qualquer elemento extraído dela é um evento que ocorre abundantemente na natureza, não resultando em risco significativo para a microbiota do solo.
11. Culturas de *B. thuringiensis* estão registradas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA sob diferentes formulações para aplicação em 30 tipos de culturas de vegetais para uso alimentar.
12. Biopesticidas baseados na toxina são amplamente utilizados como uma alternativa aos inseticidas químicos em termos de segurança a organismos não-alvo e quando ocorre o desenvolvimento de resistência a inseticidas químicos.
13. Estudos de campo realizados no Brasil, sobre as populações de insetos presentes em plantações de milho transgênico derivado da linhagem MON810, mostraram que a presença de inimigos naturais e de insetos não-alvo, nestes campos, é semelhante.



14. O milho MON810 não apresentou efeito sobre a dinâmica populacional das espécies predominantes de aranhas e insetos benéficos de diferentes guildas tróficas, incluindo pragas não-alvo e insetos benéficos.
15. Dentre as vantagens de utilização do gene *cry* em relação a outros métodos de controle de lepidópteros, estão a ausência de efeitos negativos em insetos não-alvo, mamíferos e seres humanos, a alta especificidade e eficiência contra os insetos-alvo, a degradabilidade ambiental e a segurança de manipulação e utilização.
16. Qualquer medida de controle de insetos que permita a redução na utilização de defensivos químicos deve ser considerada, principalmente sob o ponto de vista ambiental, de segurança e econômico.
17. A coexistência entre cultivares de milhos convencionais (melhoradas ou crioulas) e cultivares transgênicas de milhos é possível do ponto de vista agrônomo, devendo-se observar o disposto na Resolução Normativa nº 4 da CTNBio.
18. As críticas, questionamentos e alegações protocoladas por pessoas ou organizações que discutem a liberação desta variedade transgênica são, em sua maioria, baseadas em notícias de jornais ou endereços eletrônicos de organizações não-científicas, não apresentando fundamento científico.
19. Alguns documentos protocolados apresentam diversas afirmações conceitualmente erradas ou superficiais, mostrando um desconhecimento profundo de biologia molecular e induzindo o leitor a conclusões errôneas.
20. O Anexo III do Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança (Decreto 5.705, de 16 de fevereiro de 2006) dispõe que os riscos associados aos organismos vivos modificados ou aos produtos deles derivados, a saber, materiais beneficiados que têm como origem um organismo vivo modificado, contendo combinações novas detectáveis de material genético replicável obtido por meio do uso de biotecnologia moderna, devem ser considerados no contexto dos riscos apresentados pelos receptores não-modificados ou organismos parentais no provável meio receptor.
21. O histórico de uso desta variedade transgênica no mundo aponta para grande acúmulo de informações científicas confiáveis que indicam ser esta variedade tão segura para o meio ambiente e para a saúde humana e animal quanto as variedades de milhos híbridos que vêm sendo utilizadas.
22. Após dez anos de uso em diversos países, não foi detectado problema algum para a saúde humana e animal ou para o meio ambiente que possa ser atribuído a milhos transgênicos. É necessário enfatizar que a falta de efeitos negativos resultantes do cultivo de plantas

transgênicas de milho não quer dizer que eles não possam vir a acontecer. Risco zero e segurança absoluta não existem no mundo biológico, muito embora já exista um acúmulo de informações científicas confiáveis e um histórico seguro de uso de dez anos que nos permite afirmar que o milho MON810 é tão seguro quanto as versões convencionais. Assim, a requerente deverá conduzir monitoramento de liberação pós-comercial nos termos da Resolução Normativa nº 3 da CTNBio.

Diante do exposto, e considerando os critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco de matérias-primas geneticamente modificadas, é possível concluir que o milho Guardian, derivado da linhagem MON810, é tão seguro quanto seu equivalente convencional.

A CTNBio considera que essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou de agravos à saúde humana e animal. As restrições ao uso do OGM em análise e seus derivados estão condicionadas ao disposto na Resolução Normativa nº 03 e Resolução Normativa nº 04 da CTNBio.

#### IX. Referências Bibliográficas

1. Agbios. 2007. GM Database: Information on GM Approved Products: MON810. <http://www.agbios.com/dbase.php?action=Submit&evidx=9>
2. ALVES FILHO, J.P. 2001. Agrotóxicos e Agenda 21: sinais e desafios da transição para uma agricultura sustentável. In: II SINTAG Anais. II Simpósio Internacional de Tecnologia de Aplicação de Agrotóxicos: Eficiência, Economia e Preservação da Saúde Humana e do Ambiente, Jundiaí, SP, 17/07/2001 a 20/07/2001.
3. ANVISA. 2006. <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/b01.pdf>. Acesso em 15/10/2006.
4. ARONSON, A.I. 2000. Incorporation of protease k into larval insect membrane vesicles does not result in disruption of integrity or function of the pore-forming *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin. Appl. Environ. Biol. 66: 66: 4568-4570.
5. ARONSON, A.I.; SHAI, Y. 2001. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. FEMS Microbiol. Letters 195:1-8.
6. BAHIA FILHO, A.F.C.; GARCIA, J.C. 2000. Análise e avaliação do mercado brasileiro de sementes de milho. In: UDRY, C.V.; DUARTE, W.F. (Org.) Uma história brasileira do milho: o valor de recursos genéticos. Brasília: Paralelo 15, 167-172.
7. BATISTA, R.; NUNES, B.; CARMO, M.; CARDOSO, C.; JOSÉ, H.; DE ALMEIDA, A.; MANIQUE, A.; BENTO, L.; RICARDO, C.; OLIVEIRA, M. 2005. Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. J. Allergy Clin. Immunol. 116: 403-10.
8. BORÉM, A.; GIÚDICE, M.P.D. 2004. Cultivares transgênicos. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Eds.). Tecnologias de produção do milho. Viçosa: UFV, 2004. P. 85-108.
9. BRODERICK, N.A.; RAFFA, K.F.; HANDELSMAN, J. 2006. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 15196-15199.
10. BROOKES, G.; BARFOOT, P.; MELÉ, E.; MESSEGUER, J.; BÉNÉTRIX, F. BLOC, D.; FOUEILLASSAR, X; FABIÉ, A.; POEYDOMENGE, C. 2004. Genetically modified maize: pollen movement and crop co-existence. Dorchester, UK: PG Economics, 20pp. ([www.pgeconomics.co.uk/pdf/Maizepollen2004final.pdf](http://www.pgeconomics.co.uk/pdf/Maizepollen2004final.pdf))

11. BROOKES, G.; BARFOOT, P. 2006. Global Impact of Biotech Crops: Socio-Economic and Environmental Effects in the First Ten Years of Commercial Use. *AgBioForum* 9: 139-151.
12. CONAB. Milho total (1ª e 2ª safra) Brasil - Série histórica de área plantada: safra 1976-77 a 2006-07. <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/MilhoTotalSerieHist.xls>
13. EPA. 1998. Transmittal of the final report of the FiFra scientific advisory panel subpanel on *Bacillus thuringiensis* (Bt). <http://www.epa.gov/scipoly/sap/meetings/1998/february/finalfeb.pdf>
14. FALCO, M.C.; SILVA FILHO, M.C. 2001. Plantas transgênicas no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. Recursos Genéticos e Melhoramento – Plantas. Rondonópolis: Fundação MT, p. 1011-1056.
15. FAO/WHO – Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organisation. 2000a. Grassland Index. *Zea mays* L. (<http://www.fao.org/WAICENT/faoinfo/agricult/agp/agpc/doc/gbase/data/pf000342.htm>)
16. FAO/WHO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2000. Safety Aspects of Genetically Modified Foods of Plant Origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, 29 May – 2 June 2000. World Health Organisation, WHO Headquarters, Geneva, Switzerland. 35pp. ([http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/en/ec\\_june2000\\_en.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/en/ec_june2000_en.pdf))
17. FAO/WHO – Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación / Organización Mundial de la Salud. 2004. Codex Alimentarius: Alimentos obtenidos por medios biotecnológicos. Roma: FAO, 57pp.
18. FAO. 2004. The State of Food and Agriculture 2003-2004. Agricultural Biotechnology: Meeting the needs of the poor? Rome, FAO, 208pp.
19. FAO. 2007. FAOSTAT. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx>.
20. FERNANDES, O.D. 2003. Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) em *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e no parasitóide de ovos *Trichogramma* spp. Tese de Doutorado, ESALQ/USP. Piracicaba, SP. 164p.
21. FRIZZAS, M.R. 2003. Efeito de milho geneticamente modificado MON810 sobre a comunidade de insetos. Tese de Doutorado, ESALQ/USP. Piracicaba, SP. 192p.
22. HAMMOND, B.; CAMPBELL, K.; PILCHER, C.; ROBINSON, A.; MELCION, D.; CAHAGNIER, B.; RICHARD, J.; SEQUEIRA, J.; CEA, J.; TATLI, F.; GROGNA, R.; PIETRI, A.; PIVA, G.; RICE, L. 2003. Reduction of fumonisin mycotoxins in Bt corn. *Toxicologist* 72(S-1): 1217.
23. HAMMOND, B.G.; CAMPBELL, K.W.; PILCHER, C.D.; DEGOOYER, T.A.; ROBINSON, A.E.; MCMILLEN, B.L.; SPANGLER, S.M.; RIORDAN, S.G.; RICE, L.G.; RICHARD, J.L. 2004. Lower fumonisin mycotoxin levels in the grain of Bt corn grown in the United States in 2000-2002. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 52: 1390-1397.
24. HAMMOND, B. G.; DUDEK, R.; LEMEN, J. K.; NEMETH, M. A. 2006. Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn borer-protected corn. *Food Chem. Toxicol.* 44: 1092-1099.
25. HOFTE, H.; WHITELEY, H.R. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.* 53: 242-255.
26. KLEIN, T.M.; WOLF, E.D.; WU, R.; SANFORD, J.C. 1987. High velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature* 327: 70-73.
27. LUNA, S.V.; FIGUEROA, J.M.; BALTAZAR, M.B.; GOMEZ, L.R.; TOWNSEND, R. E SCHOPER, J.B. 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Sci.* 41: 1551-1557.

28. MAGG, T.; MELCHINGER, A.E.; KLEIN, D.; BOHN, M. 2002. Relationship between European corn borer resistance and concentration of mycotoxins produced by *Fusarium spp.* in grains of transgenic Bt maize hybrids, their isogenic counterparts, and commercial varieties. *Plant Breeding* 121: 146-154.
29. MESSEGUER, J.; PEÑAS, G.; BALLESTER, J.; BAS, M.; SERRA, J.; SALVIA, J.; PALAUDELMÀS, M.; MELÉ, E. 2006. Pollen-mediated gene flow in maize in real situations of coexistence. *Plant Biotechnology Journal*. 4:633-645.
30. MILNE, R.; KAPLAN, H. 1993. Purification and characterization of a trypsin-like digestive enzyme from spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*) responsible for the activation delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 23: 663-673.
31. NAKAJIMA, O.; TESHIMA, R.; TAKAGI, K.; OKUNUKI, H.; SAWADA, J.I. 2006. ELISA method for monitoring human serum IgE specific for Cry1Ab introduced into genetically modified corn. *Regul. Toxicolog. Pharmacol.* 44: 182-188.
32. NIELSEN, K.M.; BONES, A.M.; SMALLA, K.; VAN ELSAS, J.D. 1998 Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria – a rare event? *FEMS Microbiology Reviews* 22, 79-103.
33. NUFFIELD COUNCIL ON BIOETHICS. 2003. The use of genetically modified crops in developing countries: a follow-up discussion paper. 144 pp. <http://www.agbios.com/docroot/articles/03-363-001.pdf>.
34. OKUNUKI, H.; TESHIMA, R.; SHIGETA, T.; SAKUSHIMA, J.; AKIYAMA, H.; GODA, Y., TOYODA, M.; SAWADA, J. 2002. Increased digestibility of two products in genetically modified food (CP4-EPSPS and Cry1Ab) after preheating. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 43:68-73.
35. PAPST, C.; UTZ, H.F.; MELCHINGER, A.E.; EDER, J.; MAGG, T.; KLEIN, D.; BOHN, M. 2005. Mycotoxins produced by *Fusarium spp.* in isogenic Bt vs. non-Bt maize hybrids under European corn borer pressure. *Agronomy Journal* 97: 219-224.
36. RODRIGO-SIMÓN A.; DE MAAGD R.A.; AVILLA, C.; BAKKER, P.L.; MOLTHOFF, J.; GONZÁLEZ-ZAMORA, J.E.; FERRÉ, 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: 1595-1603.
37. SANDEN, M.; BERNTSSEN, M.H.G.; KROGDAHL, D.; HERME, G-I.; MCKELLEP, A-M. 2005. An examination of the intestinal tract of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parrfed different varieties of soy and maize. *J. Fish Dis.* 28:317-30.
38. SHEWRY, P.R.; BAUDO, M.; LOVEGROVE, A.; POWERS, S.; NAPIER, J.A.; WARD, J.L.; BAKER, J.M.; BEALE, M.H. 2007. Are GM and conventionally bread cereals really different? *Trends in Food Science & Technology* 18: 201-209.
39. SHIMADA, N.; YONGSOON, K.; MIYAMOTO, K.; YOSHIOKA, M.; MURATA, H. 2003. Effects of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin on mammalian cells. *J Vet Med Sci.* 65 : 187-191.
40. SIQUEIRA, J. O. ; TRANNIN, I. C. B.; RAMALHO, M. A. P. ; FONTES, E. M. G. 2004. Interferências no agrossistemas e riscos ambientais de culturas transgênicas tolerantes a herbicidas e protegidas contra insetos. *Cadernos de Ciências e Tecnologia* 21: 11-81.
41. WATANABE, E.; MARIN, V.A.; NUTTI, M.R. 2003. Avaliação da segurança alimentar. In: BORÉM, A.; GIUDICE, M.P.; COSTA, N.M.B. (Ed.) Alimentos geneticamente modificados. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 302 pp.
42. WHO – World Health Organization. 2005. Modern food biotechnology, human health and development: an evidence-based study. 84pp. [http://www.worldfoodscience.org/pdf/biotech\\_en.pdf](http://www.worldfoodscience.org/pdf/biotech_en.pdf).

43. WU, F.; MILLER, J.D.; CASMAN, E.A. 2004. The economic impact of Bt corn resulting from mycotoxin reduction. *Journal Of Toxicology-Toxin Reviews* 23: 397-424.
44. WU, F. 2006. Mycotoxin reduction in Bt corn: Potential economic, health, and regulatory impacts. *Transgenic Research* 15: 277-289.

Walter Colli  
Presidente da CTNBio

#### Voto divergente:

O relator Dr. Rubens Onofre Nodari (Subcomissão Setorial Permanente Ambiental) emitiu parecer contrário a aprovação deste produto por considerar que:

1. A doutrina da equivalência substancial não tem amparo legal ou científico para ser concedida.
2. A seqüência de nucleotídeos inseridos nas linhagens MON810 estão indisponíveis;
3. A análise de risco, composta de estudos sobre possíveis efeitos adversos ao meio ambiente nos ecossistemas brasileiros com as variedades brasileiras descendentes do MON810, está ausente.
4. Estudos com o núcleo inseticida da toxina Cry1Ab extraído de plantas MON810 estão ausentes.
5. Dados de expressão da toxina inseticida cry1Ab nos diferentes órgãos e tecidos das plantas transgênicas das variedades brasileiras (exceto folhas) estão ausentes.
6. A maioria dos estudos com organismos não-alvo não são cientificamente robustos.
7. Demandas da CTNBio não foram atendidas pela empresa requerente.
8. A literatura científica disponível foi parcialmente utilizada.
9. Houve tentativa de considerar iguais o uso de inseticidas biológicos a base de *Bacillus thuringiensis* e o MON810, sem considerar que o OGM contém genes não nativos e parcialmente sintéticos expressos todo o tempo e em todos os tecidos da planta.
10. Um plano efetivo e eficaz de coexistência com outros sistemas de cultivo e variedades sem contaminação é inexistente.
11. A Lei 11.105/2005, particularmente na observância do Princípio da Precaução, e o Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança, em particular às diretrizes e princípios da Análise de Risco, estipuladas em seu Anexo III, não foram atendidos.
12. Deva ser realizada avaliação de risco, incluindo estudos de impacto ambiental nos ecossistemas brasileiros e os estudos nas regiões de cultivo de milho no Brasil para avaliar a possibilidade de coexistência sem contaminação.
13. Deva ser realizada uma audiência pública específica sobre o milho MON810.