

**NOTIFICAÇÃO APRESENTADA AO ABRIGO DO ARTIGO 5.º DO
DECRETO-LEI N.º 72/2003, DE 10 DE ABRIL**

**PEDIDO PARA LIBERTAÇÃO DELIBERADA NO
AMBIENTE DO MILHO GENETICAMENTE
MODIFICADO TOLERANTES A HERBICIDA**

Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal, S.A.



ÍNDICE

DOSSIER TÉCNICO

SUMÁRIO	3
INTRODUÇÃO.....	5
A. INFORMAÇÃO GERAL.....	5
B. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM (A) A PLANTA TRANSFORMADA OU (B) (QUANDO APROPRIADO) AS LINHAS PARENTAIS	6
C. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A MODIFICAÇÃO GENÉTICA	9
D. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A PLANTA GENETICAMENTE MODIFICADA.....	9
E. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O LOCAL DE ENSAIO.....	9
F. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O ENSAIO (SOMENTE PARA NOTIFICAÇÕES SUBMETIDAS DE ACORDO COM OS ARTIGOS 6 E 7)	9
G. INFORMAÇÃO SOBRE O CONTROLO, MONITORIZAÇÃO PÓS- COLHEITA E PLANOS DE TRATAMENTO DOS RESÍDUOS.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13
ANEXO 1 Descrição dos vectores (CONFIDENCIAL).....	30
ANEXO 2 Análise molecular da inserção (CONFIDENCIAL).....	34
ANEXO 3 Protocolo de ensaios (CONFIDENCIAL).....	38

AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL

AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL PARA O REGISTO SEGURO DO MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO	17
---	----

SUMÁRIO

Notificador: Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal

Título: Programa de ensaios de campo para testar variedades de milho geneticamente modificadas, tolerantes ao herbicida glifosato.

Objectivo da transformação:

Obtenção de milho tolerante ao herbicida glifosato (episódio de transformação E5846.49.7.12 e E5846.53.9.4).

Espécie receptora:

Zea mays L.

Gene(s) de interesse introduzido(s) e sequências de controle:

No episódio E5846.49.7.12 derivado do plasmídeo PHP20118:

- O gene *gat* (versão sintética), promotor UBIZM1 com o reforço CaMV35S, UBI1ZM 5'UTR e o intrão UBI1ZM, e o terminador PINII [**Informação Confidencial**].

No episódio E5846.53.9.4 derivado do plasmídeo PHP20122:

- O gene *gat* (versão sintética), promotor UBIZM1 com 3 reforços CaMV35S, UBI1ZM 5'UTR e o intrão UBI1ZM, e o terminador PINII [**Informação Confidencial**].

Duração do projecto:

4 anos

Local dos ensaios:

Em 2006, os locais de experimentação serão na Freguesia de Vila Nova de Muia, Concelho de Ponte da Barca e Freguesia do Paço, Concelho de Arcos de Valdevez

Precauções:

O fluxo de pólen das plantas geneticamente modificadas será controlado por uma distância de isolamento de 400m. O local de ensaio será também rodeado por 4 linhas de bordadura com uma variedade convencional com ciclo vegetativo semelhante que será destruída no fim do ensaio.

Resumo de antecedentes (factos relevantes):

A Pioneer começou a testar milhos geneticamente modificados com a transformação originada nos plasmídeos PHP20118 e PHP20122 em 2003. Estes milhos geneticamente modificados têm estado em ensaios contínuos (3 sementeiras por ano) no Hawaii. Vários campos de ensaio foram conduzidos na principal região da cultura do milho nos Estados Unidos da América em 2004. Ensaios de campo foram também conduzidos no Chile em 2004/2005.

Objectivo do ensaio:

Vários tipos de ensaio de campo estão planeados:

- ensaios para avaliar o perfil de composição de nutrientes, expressão de proteína, comportamento agronómico e tolerância ao glifosato de variedades geneticamente

modificadas em comparação com os seus equivalentes não geneticamente modificados

- ensaios para avaliar o comportamento residual do glifosato em plantas de milho geneticamente modificadas (serão conduzidos somente nos anos seguintes).
- ensaios para recolher informação sobre o valor agronómico do milho transgénico (serão conduzidos somente nos anos seguintes).

Número e superfície dos ensaios:

Cada ensaio em 2006 ocupará uma área até 1000m² semeados com as plantas geneticamente modificadas consideradas nesta aplicação. A superfície total do ensaio (todas as variedades e bordaduras incluídas) será superior.

Nos anos seguintes, poderão ser instalados, 6 ensaios de campo ocupando cada uma área até 5000m², semeados com o milho geneticamente modificado considerado nesta aplicação.

INTRODUÇÃO

O milho tem sido geneticamente modificado pela inserção do gene *gat* que confere tolerância ao glifosato, de modo a permitir aos agricultores o uso deste herbicida não selectivo de largo espectro e sistémico para combate às infestantes.

O glifosato mata as plantas pela inibição selectiva da actividade da enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintase (abreviatura EPSPS) que catalisa uma etapa critica na biossíntese dos ácidos aminados aromáticos nas plantas. Esta enzima está somente presente nas plantas e microorganismos, tais como bactérias e fungos, não estando presentes nos animais e humanos. Porque os ácidos aminados aromáticos, tais como fenilalanina, tirosina e triptofano, são necessárias para a síntese proteica, requerida para o crescimento e manutenção das plantas, a aplicação de glifosato resulta na sua morte.

O gene glifosato N-acetiltransferase (*gat*) tem sido usado para conferir tolerância ao glifosato. A proteína GAT, acetila amina secundária do glifosato, e a forma acetilada do glifosato perde a sua actividade herbicida contra o milho e outras plantas. A proteína GAT detoxifica o glifosato transferindo o grupo acetil do acetil CoA para o grupo amina do glifosato formando N-acetilglifosato. Assim, quando as plantas de milho geneticamente modificadas que expressem a proteína GAT são tratadas com glifosato as plantas não são afectadas devido à acetilação do glifosato pela proteína GAT. A biossíntese dos ácidos aminados aromáticos não pára nas plantas geneticamente modificadas apesar da presença do glifosato, permitindo que o desenvolvimento das plantas geneticamente modificadas continue. Desta forma o glifosato pode ser usado para combater as infestantes nos campos de milho geneticamente modificado.

Estes milhos geneticamente modificados, constituem uma ferramenta adicional que se planeia pôr à disposição da agricultura. Dado este objectivo, é necessário reunir informação que possa ser usada para a elaboração do futuro dossier que permita colocar estes milhos no mercado Europeu.

A. INFORMAÇÃO GERAL

1. Nome e morada do proponente (empresa ou instituto)

Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal, S.A.
Campo Pequeno, 48 – 6º Esquerdo
Edificio Taurus
1000-081 Lisboa

2. Nome, qualificação e experiência do técnico(s) responsável

Cada ensaio será supervisionado por um Engenheiro Agrónomo, Investigador Principal

3. Título do Projecto

Programa de ensaios de campo para testar milhos geneticamente modificados tolerantes ao herbicida glifosato.

B. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O ORGANISMO RECEPTOR

1. Nome científico:

- a) Família: Gramineae
- b) Género: *Zea*
- c) Espécie: *mays* (2n = 20)
- d) Subespécie: none
- e) Cultivar/linha: variedades experimentais
- f) Nome comum: Milho

2. Reprodução / compatibilidade sexual

a) Informação referente à reprodução

i. Modo(s) de reprodução

O milho é uma espécie alogâmica com polinização anemófila, monóica com inflorescências separadas.

- Os órgãos masculinos estão agrupados na bandeira, situada no topo do colmo que somente contém os estames envolvidos nas glumas. Estes órgãos aparecem antes dos órgãos femininos (protandria).
- Os órgãos femininos estão agrupados numa ou várias espigas situadas nas axilas das folhas e são reconhecidos pelos seus longos estiletos chamados barbas que emergem das maçarocas (folhas modificadas) que envolvem a espiga. Cada flor contém um ovário simples.

Em condições naturais a polinização do milho é principalmente cruzada (mais de 95%). O milho é tipicamente uma espécie alogâmica.

ii. Factores específicos que afectam a reprodução

O desenvolvimento da bandeira, o aparecimento das barbas e a polinização são os estádios mais críticos do desenvolvimento do milho. A produção de grão é fortemente afectada por stresse hídrico e stresse de fertilidade. Geralmente, a viabilidade do pólen é curta. Sob condições de alta temperatura (Herrero and Johnson, 1980) e dessecação (Hoekstra *et al.*, 1989), a viabilidade do pólen do milho pode ser de poucos minutos; estas condições podem danificar a bandeira antes do grão de pólen cair (Lonnquist and Jugenheimer, 1943). Condições mais moderadas podem prolongar a vida do grão de pólen no campo por várias horas (Jones and Newell, 1948).

iii. Duração do ciclo vegetativo

O milho é uma cultura anual com um ciclo vegetativo que varia de curto com 10 semanas até longo com 48 semanas, da emergência das plantas até à maturação (Shaw, 1988). Esta variabilidade na duração do ciclo permite que o milho seja cultivado numa gama variada de condições climáticas.

Nas condições Europeias, a sementeira ocorre de meados de Abril a meados de Maio e a colheita desde o início de Setembro (para o milho usado como forragem) até meados de Dezembro (para os milhos de ciclo longo, para grão).

b) Compatibilidade sexual com outras espécies cultivadas ou selvagens

Não é possível a hibridação inter-específica na Europa devido à ausência de espécies afins no território.

3. Sobrevivência

a) Capacidade de formar estruturas para sobrevivência ou dormência

O milho é uma espécie vegetal anual, não-dormente, sendo as sementes as únicas estruturas de sobrevivência. A sobrevivência da semente do milho está dependente da temperatura, da humidade, do genótipo, da protecção da maçaroca e do estágio de desenvolvimento (Rossman, 1949). Como regra geral, só os grãos conservados nas espigas por debulhar serão capazes de conservar a capacidade de germinação para o ano próximo.

b) Factores específicos que afectam a sobrevivência (se houver)

Em geral, não existe germinação na espiga de milho. Quando esse fenómeno ocorre nos dias que se seguem à colheita as novas plantas são destruídas pelo frio. Assim, essas plantas nunca alcançam o estágio reprodutivo.

Temperaturas muito baixas têm um efeito adverso na germinação do milho, constituindo o maior risco na produção de semente do milho (Wych, 1988). Por outro lado, temperaturas superiores a 45°C causam grandes danos na viabilidade da semente do milho (Craig, 1977).

4. Disseminação

A disseminação pode ocorrer pelo pólen ou pelas sementes.

a) Formas e extensão (e.g. estimativa de como a viabilidade do pólen e/ou sementes diminuem com a distância) da disseminação

O milho na Europa é uma espécie agrícola, sendo que a sua disseminação só ocorre por sementeira nos solos aráveis dedicados à agricultura.

Se o pólen viável oriundo de plantas geneticamente modificadas pode ser transportado pelo vento atingindo estigmas receptivos durante os 30 minutos que constituem o seu período de viabilidade, pode ocorrer transferência de pólen. Este fenómeno torna-se menos realista à medida que a distância ao campo de milho transgénico aumenta. Deixa de ocorrer quando atinge 200m, distância reconhecida e autorizada para a

produção de semente de acordo com as normas internacionais de pureza (normas de certificação da OCDE).

b) Factores específicos que afectam a disseminação

A disseminação pode ocorrer por forma de pólen ou sementes. O pólen liberta-se da inflorescência masculina por gravidade e pelo vento. A dispersão começa dois ou três dias antes de aparecerem os estigmas. As flores masculinas podem ter uma duração entre 6 a 10 dias.

A dispersão de semente é geralmente limitada aos campos cultivados. De facto, as propriedades inerentes à espécie, como a protecção da espiga que está coberta e a inserção de grãos individuais na maçaroca (estrutura rígida central da espiga), reduzem a possibilidade de dispersão natural das sementes. A sobrevivência da semente do milho é largamente limitada pela sua sensibilidade a doenças e ao frio. Assim, não existe geralmente, germinação na espiga.

5. Distribuição geográfica da planta

O milho depende do Homem para a sua dispersão geográfica. O milho é usado como forragem ou para produzir grão é a 3ª espécie de cereais mais cultivada no mundo.

6. Descrição do habitat natural da planta, incluindo informação sobre predadores naturais, parasitas, competidores e simbioses

O milho é uma espécie originária da América Central que não pode crescer abaixo de 9-10°C, situando-se a sua temperatura óptima de crescimento entre 30 e 33°C. Em condições de clima Continental (Canadá, Rússia), o milho é cultivado até ao paralelo 60. O milho pode crescer na maioria dos países Europeus.

O milho é susceptível a uma gama de doenças provocadas por fungos (Antracnose, Northern Leaf Blight, Fusário, Morrão, Crazy top) e a pragas (*Atomaria lineari*, *Blaniulus guttulatus*, *Scutigerella immaculata*, *Tipula paludosa*, *Agrotis ipsilon*, *Agrotis ipsilon*, *Sesamia nonagrioides*, *Ostrinia nubilalis*, *Diabrotica virgifera virgifera*, *Diabrotica barberi*, *Rhopalosiphum maidis*), assim como, competição com outras plantas infestantes.

7. Outras interações potenciais, relevantes para OGM da planta com organismos do ecossistema onde normalmente cresce, incluindo informação sobre efeitos tóxicos em humanos, animais e outros organismos

O milho interacciona com outros organismos naturais incluindo insectos, aves e mamíferos.

O milho é extensivamente cultivado tendo uma história de segurança no seu uso. Não é considerado perigoso nem susceptível de causar efeitos tóxicos em humanos, animais ou outros organismos (Del Valle *et al.*, 1983).

C. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A MODIFICAÇÃO GENÉTICA

Esta secção é considerada matéria Confidencial

D. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A PLANTA GENETICAMENTE MODIFICADA

Esta secção é considerada matéria Confidencial

E. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O LOCAL DE ENSAIO

1. Localização e área do(s) ensaio(s)

Em 2006, os locais de experimentação serão na Freguesia de Vila Nova de Muia, Concelho de Ponte da Barca e Freguesia do Paço, Concelho de Arcos de Valdevez

Em 2006 o ensaio, ocupará uma área até 1000 m², para cada milho geneticamente modificados considerado nesta aplicação (milhos 49712 e 5394) A superfície total (variedades e bordaduras) em cada local será superior.

Nos anos seguintes poderá haver 6 locais, cada um com cerca de 5000 m² de cada variedade geneticamente modificada. A superfície total (variedades e bordaduras) em cada local será superior.

2. Descrição do ecossistema, incluindo clima, flora e fauna

Os locais de ensaio situam-se em zonas tradicionais da cultura do milho. A fauna e a flora não apresentam características especiais. Os campos são instalados em locais fora de zonas protegidas.

3. Presença de espécies selvagens ou cultivadas sexualmente compatíveis

Não existem, na Europa, espécies relacionadas sexualmente compatíveis com o milho.

4. Proximidade de biótipos oficialmente reconhecidos ou áreas protegidas que possam ser afectadas

Não existem biótipos oficialmente reconhecidos ou zonas protegidas cerca das zonas agrícolas onde se localizam os lugares escolhidos para os ensaios.

F. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O ENSAIO

1. Objectivo do ensaio

O objectivo do programa de ensaios é avaliar o milho geneticamente modificado tolerante ao herbicida glifosato. Vários tipos de ensaios de campo estão planeados:

- ensaios para avaliar o perfil de composição de nutrientes, expressão de proteína, comportamento agronómico e tolerância ao glifosato das variedades geneticamente modificadas em comparação com os seus equivalentes não geneticamente modificados,
- ensaios para avaliar o comportamento residual do glifosato nas plantas geneticamente modificadas (serão realizadas nos anos seguintes),
- Ensaios para recolher informação sobre o valor agronómico do milho transgénico (serão realizadas nos anos seguintes)

2. Data(s) e duração prevista para os ensaios

O plano é conduzir o ensaio durante 4 campanhas do milho:

Quadro 11: Datas e duração prevista para os ensaios

CAMPANHA	ESTAÇÃO DE CRESCIMENTO
2006	Início de Abril – fim de Novembro
2007	Início de Abril – fim de Novembro
2008	Início de Abril – fim de Novembro
2009	Início de Abril – fim de Novembro

3. Métodos de ensaio das plantas geneticamente modificadas

A sementeira será realizada grão a grão, em linhas separadas de 70 a 80cm. O comprimento de cada linha será adaptado a cada ensaio e o espaço entre sementes será de aproximadamente 25cm. Na extremidade de cada linha ficará um espaço livre para facilitar o acesso.

O protocolo do ensaio é descrito no Anexo 3.

4. Método para preparação e maneiio do local de ensaio, antes, durante e após o ensaio, incluindo praticas culturais e métodos de colheita

Serão utilizados os métodos usuais de preparação do solo e práticas culturais de modo a assegurar o desenvolvimento adequado do milho.

De acordo com as condições deste estudo, algumas amostras serão colhidas manualmente. No final, toda a biomassa que não for recolhida para análises será destruída por trituração e incorporada no solo.

Depois do ensaio, a parcela será visitada regularmente durante o ano seguinte com vista a acompanhar a germinação de plantas. A próxima cultura que não seja milho comercial, será conduzida de acordo com as condições usuais, particularmente usando um herbicida diferente do glifosato.

5. Número de plantas aproximado (ou plantas por m²)

A densidade de plantas será adaptada a cada ensaio e de aproximadamente de 60 000 a 100 000 plantas/ha.

G. INFORMAÇÃO SOBRE O CONTROLO, MONITORIZAÇÃO PÓS-COLHEITA E PLANOS DE TRATAMENTO DOS RESÍDUOS

1. Precauções tomadas:

a) Distância(s) de espécies sexualmente compatíveis, quer selvagens quer cultivadas

Não existem, na Europa, espécies sexualmente compatíveis com o milho.

b) Medidas para minimizar/prevenir a dispersão de qualquer órgão reprodutivo da planta geneticamente modificada (por exemplo, pólen, sementes, tubérculos)

Será mantida uma distância de 400m de isolamento entre o milho transgénico e outros campos de milho não-experimentais. Adicionalmente, o ensaio será rodeado de 4 linhas de bordadura de milho convencional de ciclo vegetativo semelhante que será igualmente destruído no final do ciclo.

A dispersão de sementes individuais não ocorre, pois estão fixas à maçaroca e cobertas. Estão por isso, protegidas do contacto com o exterior.

Para este ensaio, poucos grãos são colhidos para efeitos de análise. Este processo será realizado por amostragem da espiga completa e destruindo as restantes espigas e grãos não usados.

2. Descrição dos métodos do tratamento do local post-ensaio

No final do ensaio, toda a biomassa que não for recolhida para análises será destruída por trituração e incorporação no solo. Plantas de milho que possam emergir após o ensaio serão destruídas por aplicação de um herbicida adequado (outro que não seja o glifosato).

3. Descrição dos métodos de tratamento post-ensaio para as plantas geneticamente modificadas incluindo os resíduos

Os resíduos produzidos pelas plantas geneticamente modificadas serão destruídos e incorporados no solo.

4. Descrição dos planos e técnicas de monitorização

Os locais serão visitados regularmente para acompanhamento das necessidades agronómicas e experimentais.

Essas visitas serão também utilizadas para controlar o desenvolvimento das plantas e a dispersão de material.

5. Descrição dos planos de emergência

A regular monitorização dos campos permitirá a imediata identificação de acontecimentos estranhos.

No caso de acontecer alguma emergência o ensaio poderá ser imediatamente destruído pela aplicação de herbicidas diferentes de glifosinato de amónio ou glifosato ou por destruição mecânica e incorporação no solo.

6. Métodos e procedimentos para proteger o local

O local do ensaio será rodeado por 4 linhas de bordadura com milho convencional de maturação semelhante que será também destruído no final do ensaio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

- An, G., Mitra, A., Choi H.K., Costa, M.A., An, K., Thornburg, R.W. and Ryan, C.A. (1989) Functional analysis of the 3' control region of the potato wound-inducible proteinase inhibitor II gene. *Plant Cell*, 1:155-122.
- Barker, R.F., Idler, K.B., Thompson, D.V. and Kemp, J.D. (1983) Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Mol. Biol.* 2, pp. 335-350.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochem*, 72:248-54.
- Christensen, A.H., Sharrock, R.A. and Quail, P.H. (1992) Maize polyubiquitin genes: structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant Mol Biol.*, 18:675-689.
- Craig, W.F. (1977) Production of hybrid corn seed. *In: Corn and Corn Improvement*, Sprague, G.F. (ed). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, pp.671-719.
- Del Valle, F.R., Pico, M.L., Camacho, J.L. and Bourges, H. (1983) Effect of processing parameters on trypsin inhibitor and lectin contents of tortillas from whole raw corn-soybean mixtures. *J. Food Sci.*, 48, pp. 246-252.
- Herrero, M.P. and Johnson, R.R. (1980) High temperature stress and pollen viability of maize. *Crop Science*, 20:796-800.
- Hoekstra, F.A., Crowe, L.M. and Crow J.H. (1989) Differential desiccation sensitivity of corn and *Pennisetum* pollen linked to their sucrose contents. *Plant, Cell and Environment*, 12:83-91.
- Hohn, T., Richards, K. and Genevieve-Lebeurier. (1982) Cauliflower mosaic virus on its way to becoming a useful plant vector. *Curr Top Microbiol Immunol*, 96:194-236.
- Jones, M.D. and Newell, L.C. (1948) Longevity of pollen and stigmas of grasses: buffalograss, *Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm. and corn, *Zea Mays* L. *Journal of American Society of Agronomy*, 40:195-204.
- Lonnquist, J.H. and Jugenheimer, R.W. (1943) Factors affecting the success of pollination in corn. *Journal of the American Society of Agronomists*, 35:923-933.
- Rossman, E.C. (1949) Freezing injury of inbred and hybrid maize seed. *Agronomy Journal*, 41:574-583.

Shaw, R.H. (1988) Climate requirement. *In*: Corn and Corn Improvement, Sprague, G.F. and Dudley, J.W. (eds). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, pp.609-638.

Wych, R.D. (1988) Production of hybrid seed corn. *In*: Corn and Corn Improvement, Sprague, G.F. and Dudley, J.W. (eds). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, pp.603-608.

**AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL PARA O
REGISTO SEGURO DE MILHO GENETICAMENTE
MODIFICADO TOLERANTE AO HERBICIDA**

AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL PARA O REGISTO SEGURO DO MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO

Esta notificação serve para consentir o registo seguro do milho geneticamente modificado que expressa a proteína GAT que confere tolerância ao herbicida glifosato.

O objectivo deste projecto é avaliar o perfil de composição de nutrientes, expressão de proteínas, comportamento agronómico e tolerância ao glifosato do milho geneticamente modificado em comparação com os seus equivalentes não geneticamente modificados, para avaliar o comportamento residual do glifosato, e reunir informação sobre o valor agronómico das variedades de milho geneticamente modificadas.

O objectivo desta avaliação do risco ambiental (e.r.a.) é, numa base caso a caso, identificar e avaliar potenciais efeitos adversos do milho geneticamente modificado, directos e indirectos, imediatos ou a longo prazo na saúde humana ou no ambiente.

Em seguida apresentam-se as conclusões do potencial impacto ambiental resultante dos ensaios com o milho geneticamente modificado.

CONCLUSÕES SOBRE O POTENCIAL IMPACTO AMBIENTAL QUE RESULTE DO REGISTO DE PLANTAS SUPERIORES GENETICAMENTE MODIFICADAS (GMHPs)

1. Probabilidade das GMHP se tornarem mais persistentes do que as plantas receptoras ou plantas progenitoras nos habitats agrícolas ou mais invasoras nos habitats naturais

Existe uma probabilidade desprezível do milho geneticamente modificado que expressa a proteína GAT para se tornar ambientalmente persistente ou invasor sob a forma de infestante. O milho não possui nenhum atributo que lhe permita transformar-se em infestante e a expressão da proteína GAT não levam ao aparecimento dessas características.

As características que conduzem à evolução para infestante, podem descrever-se de uma forma geral como: 1) capacidade da semente germinar em distintos ambientes; 2) germinação descontínua e elevada longevidade da semente; 3) rápido desenvolvimento vegetativo (fase vegetativa – fase reprodutiva); 4) produção contínua de semente desde que as condições de crescimento o permitam; 5) auto-compatibilidade parcialmente autogâmicas e apomíticas; 6) capacidade para ter fecundação cruzada por insectos não especializados ou pelo vento; 7) grande capacidade de produção de semente em ambientes favoráveis e alguma produção de semente numa vasta gama de ambientes; 8) adaptação à dispersão de curta e larga distância; 9) reprodução vegetativa ou regeneração através de fragmentos frágeis (difíceis de remover do solo); e 10) capacidade para competir interespecificamente por meios especiais.

O milho não exhibe as tendências referidas e sendo assim, é uma planta não invasora nos ecossistemas naturais. Algumas espécies do género *Zea* são selvagens na América Central, mas mesmo assim, não apresentam a tendência de se tornarem invasoras. O milho tem sido domesticado até ao limite das sementes não se poderem separar da maçaroca. Não se podem disseminar sem a intervenção humana. As plantas são anuais pelo que não sobrevivem, na Europa, de uma estação de crescimento para a outra, devido por um lado, à fraca dormência e por outro lado a uma grande sensibilidade às temperaturas baixas.

Em caso de aparecimento não desejado do milho geneticamente modificado, poderão ser aplicadas práticas agronómicas correntes, tais como o uso de herbicidas (com excepção do glifosato) ou remoção manual ou mecânica

2. Vantagens ou desvantagens selectivas conferidas à GMHP

Como pretendido e quando cultivado, a expressão da proteína GAT no milho, confere vantagens nos ambientes agrícolas devido à tolerância ao herbicida glifosato.

Contudo, o milho é uma espécie em elevado grau de domesticação, ao limite de não poder tornar-se uma espécie perigosa fora do ambiente agrícola devido à sua fraca capacidade de sobrevivência nas condições europeias. As vantagens específicas

presentes no milho geneticamente modificado não lhe conferem nenhuma vantagem selectiva em relação a outras plantas no ambiente natural, i.e. fora do ambiente agrícola.

3. Potencialidade para transferência de genes para a mesma ou outras espécies sexualmente compatíveis nas condições de crescimento da GMHP e vantagens e desvantagens selectivas conferidas a essas espécies

Não existem na Europa, espécies selvagens sexualmente compatíveis com *Zea mays*, facto que elimina qualquer possibilidade de transferência de genes para essas espécies. O potencial para a transferência de genes a outras plantas de milho em cultura é, por conseguinte, limitado. Este potencial será contudo, consideravelmente reduzido nas condições do ensaio, onde são guardados 400 metros de isolamento entre o milho geneticamente modificado e qualquer outro campo de milho não experimental.

Conforme discutido no Ponto 2., a modificação genética do milho, não introduz nenhuma vantagem selectiva nas plantas de milho fora dos ambientes agrícolas.

4. Potencial impacto ambiental a curto ou médio prazo resultante de interacções directas ou indirectas da GMHP e os organismos alvo, tais como predadores, parasitoides e patógenos (se aplicável)

Nenhum outro impacto ambiental de curto ou longo prazo resultante das interacções directas e indirectas do milho geneticamente modificado com os organismos alvo é esperado no ambiente em que vai ser experimentado.

5. Possíveis impactos ambientais de carácter imediato ou longo prazo, resultantes das interacções directas e indirectas das GMHP com outros organismos (tendo em conta organismos que interactuem com organismos alvo), incluindo o impacto na população dos níveis de competidores, herbívoros, simbiotes (quando aplicável), parasitas e patógenos

Não se espera que ocorra qualquer potencial impacto ambiental de carácter imediato ou de longo prazo que resulte de interacções directas e indirectas do milho geneticamente modificado que expressa a proteína GAT e outros organismos no ambiente onde o milho vai ser testado.

6. Possíveis efeitos imediatos ou de longo prazo na saúde humana resultantes de potenciais interacções directas e indirectas das GMHP e as pessoas que trabalhem com essas plantas, venham a estar em contacto ou na sua vizinhança

O milho não é considerado perigoso para a saúde humana. Adicionalmente, é conhecida a longa história do uso seguro desta planta na alimentação humana e animal. O milho geneticamente modificado não introduz nenhum componente que possa causar, ou esperar que cause, efeitos imediatos ou de longo prazo na saúde humana resultante de possíveis interacções directas e indirectas do milho geneticamente modificado, com as pessoas que trabalhem directamente com esse

milho, que venham a estar em contacto ou estão na proximidade dos ensaios que envolvam o híbrido.

Além disso, a colheita resultante destes ensaios não entrará na cadeia alimentar.

Qualquer material que permaneça no campo após a colheita será destruído por incorporação no solo.

7. Possíveis efeitos imediatos ou de longo prazo na saúde animal e consequências para a cadeia alimentar humana ou animal resultantes do consumo de GMO e outros produtos derivados de GMO, se se pretender usar para alimentação animal

Não se pretende que as plantas de milho sujeitas a estes ensaios sejam usadas na alimentação animal.

O objectivo destes ensaios é somente experimental

8. Possíveis efeitos imediatos ou de longo prazo nos processos biogeoquímicos resultantes de potenciais interacções directas e indirectas do GMO com os organismos alvo e outros organismos na vizinhança dos ensaios com GMO

Conforme discutido nos **Pontos 4 e 5**, a expressão da proteína GAT no milho geneticamente modificado, não causará nenhum possível efeito imediato ou de longo prazo nos processos biogeoquímicos resultante de potenciais interacções directas e indirectas do milho geneticamente modificado e os organismos alvo e outros organismos na sua vizinhança.

A fonte do gene *gat* é uma bactéria comum do solo, *Bacillus licheniformis*, que tem uma distribuição ubíqua no ambiente, é uma fonte comum de enzimas para uso industrial, e está registada para uso em práticas agrícolas nos USA.

9. Possíveis impactos ambientais imediatos ou de longo prazo, directos ou indirectos na cultura, manejo e técnicas de colheita usadas com GMHP quando estas forem diferentes de plantas não-GMHPs

As técnicas usadas, na cultura, manejo e colheita usadas para o milho geneticamente modificado, não causaram até à data qualquer possível impacto imediato ou de longo prazo directo ou indirecto no ambiente.

Por necessidade de estudo, algumas amostras são recolhidas manualmente. No final do ensaio, a biomassa que sobrar das amostras para análise, será triturada e incorporada no solo. Depois do ensaio, a parcela será visitada regularmente durante o ano seguinte, de maneira a acompanhar a possível emergência de alguma planta. A próxima cultura diferente de um milho comercial, será conduzida seguindo os métodos usuais, particularmente usando herbicidas diferentes do glifosato.

Conclusões

A avaliação e.r.a. não identificou riscos para a saúde humana e animal ou do ambiente resultantes dos ensaios de campo com o milho geneticamente modificado. Esta afirmação baseia-se em informação contida nesta notificação e nas seguintes notas de conclusão:

- Existe uma reduzida probabilidade do milho geneticamente modificado se tornar ambientalmente persistente ou invasor em forma de infestante;
- A expressão da proteína GAT, no milho geneticamente modificado, não lhe confere nenhuma vantagem selectiva fora do ambiente agrícola;
- Não existem na EU espécies geneticamente relacionadas com o milho. A modificação genética no milho geneticamente modificado não introduz nenhuma vantagem selectiva às plantas de milho fora dos ambientes fortemente manuseados em agricultura;
- A libertação deliberada do milho geneticamente modificado resulta em impactos reduzidos no ambiente quer imediatos quer de longo prazo resultantes de interacções directas e indirectas do milho geneticamente modificado com organismos diferentes dos organismos alvo;
- As modificações genéticas do milho geneticamente modificado não introduzem nenhum componente novo conhecido por causar ou esperar que cause, potenciais efeitos imediatos ou de longo prazo na saúde humana. Além disso, o grão obtido nos ensaios não será introduzido na cadeia alimentar;
- As modificações genéticas do milho geneticamente modificado não introduzem nenhum componente novo conhecido por causar ou esperar que cause, potenciais efeitos imediatos ou de longo prazo na saúde animal. Além disso, o grão obtido nos ensaios não será introduzido na cadeia alimentar animal;
- O milho geneticamente modificado não causará nenhum efeito imediato ou de longo prazo nos processos biogeoquímicos;
- As práticas específicas de cultura, manejo e colheita, usadas para o milho geneticamente modificado, são idênticas aquelas que se usam para milho não geneticamente modificado, com excepção da tolerância ao glifosato;