

**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 1507 x NK603
(Programa para quatro anos)**

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



ÍNDICE

DOSSIER TÉCNICO

INTRODUÇÃO	5
B. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM (A) A PLANTA TRANSFORMADA OU (B) (QUANDO apropriado) AS LINHAS PARENTAIS	7
C. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A MODIFICAÇÃO GENÉTICA .	10
D. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A PLANTA GENETICAMENTE MODIFICADA	10
E. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O LOCAL DO ENSAIO	10
F. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A LIBERTAÇÃO	10
G. INFORMAÇÃO SOBRE O CONTROLO, MONITORIZAÇÃO PÓS-LIBERTAÇÃO E PLANOS DE TRATAMENTO DOS RESÍDUOS	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
ANEXO 1 Análise molecular das inserções (CONFIDENCIAL).... Erreur ! Signet non défini.	
ANEXO 2 Protocolo de Ensaio para 2006 (CONFIDENCIAL)..... Erreur ! Signet non défini.	
ANNEXO 3 Identificação dos responsáveis (CONFIDENCIAL) ... Erreur ! Signet non défini.	
AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL PARA A LIBERTAÇÃO DELIBERADA DO MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO	18

SUMÁRIO

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

Título: Programa de ensaios de campo para testar o milho geneticamente modificado 1507xNK603.

Objectivo da transformação:

O milho 1507xNK603 foi obtido por métodos tradicionais de melhoramento nas descendências dos milhos geneticamente modificados DAS-Ø15Ø7-1, sendo referido como milho 1507, pela Mycogen/Dow AgroSciences e a Pioneer e o milho MON-ØØ6Ø3-6, referido como NK603, pela Monsanto. No milho 1507xNK603 não foi introduzida qualquer nova modificação genética. O milho 1507xNK603 é resistente a alguns insectos lepidópteros e tolerante a glufosinato de amónio e glifosato.

O identificador da OECD associado ao milho 1507xNK603 é DAS-Ø15Ø7-1xMON – ØØ6Ø3-6).

Espécie receptora:

Zea mays L.

Gene(s) de interesse introduzidos e sequências de controlo:

- gene *cry1F* (versão truncada), promotor UBIZM 1(2), e gene terminador ORF25PolyA.
- gene *pat*, promotor CaMV35S e gene terminador CaMV35S.
- gene *cp4epsps*, intrão *P-ract1/ract1 + ctp2*, terminador *NOS 3'*.
- gene *cp4epsps*, promotor CaMV *e35S + Zmhsp70 + ctp2*, terminador *NOS 3'*.

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 a tomar:

O fluxo de pólen das plantas geneticamente modificadas será controlado por uma distância de isolamento de 400m para cultura de milho não experimental, tal como é exigido pelas autoridades Portuguesas. 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. Todas as plantas que não foram colhidas para análise, serão destruídas através de corte e incorporação no solo.

Resumo de antecedentes (factos relevantes):

Vários campos de ensaio têm sido conduzidos com o milho 1507xNK603 no Chile, Argentina e Estados Unidos da América desde 2002 e na Europa desde 2003. A

cultura do milho 1507xNK603 está aprovada nos Estados Unidos da América desde 2001 e no Canadá desde 2003.

Um dossier com o pedido de autorização do milho 1507xNK603 para alimentação humana e animal, assim como importação e processamento deste milho na Europa, foi submetido em Setembro 2004 à EFSA (EFSA GMO / UK/2004/05).

Um dossier com o pedido de autorização de utilização do milho 1507xNK603 para alimentação humana e animal na Europa, foi submetido em Junho 2005 no Reino Unido (EFSA/GMO/UK/2005/17).

Objectivo do ensaio:

O objectivo do ensaio é avaliar o efeito do herbicida glifosato no milho 1507xNK603. Para que este objectivo seja cumprido, terão de ser retiradas amostras de milho, assim como a observação das mesmas.

Número e superfície dos ensaios:

Realizar-se-ão até 2 ensaios por ano. A disseminação do milho 1507xNK603 geneticamente modificado, irá cobrir até 500m² em cada campo de ensaio. Esta disseminação será incluída num campo de ensaio de milho não geneticamente modificado e outras variedades de milho geneticamente modificadas descritas noutros dossiers.

Em 2006, a superfície total do ensaio (incluindo todas as variedades e bordaduras) pode atingir 5.000m² por local de ensaio.

INTRODUÇÃO

Esta notificação diz respeito ao campo de ensaio do milho geneticamente modificado 1507xNK603 resistente a certas pragas de insectos lepidópteros, tais como a broca (*Ostrinia nubilalis*), e tolerante ao herbicida glifosato (a tolerante ao herbicida glufosinato de amónio foi introduzida como um marcador seleccionável em plantas).

Os insectos lepidópteros, tais como *Ostrinia nubilalis*, são pragas de milho muito importantes. As larvas destes insectos cavam galerias no colmo e espigas do milho, causando enormes perdas de produção. Assim, é importante desenvolver um meio de controlo eficiente, a fim de se proteger a cultura do milho destas pragas.

O milho geneticamente modificado 1507xNK603, foi obtido por métodos tradicionais de melhoramento nas descendências dos milhos geneticamente modificados 1507 e NK603, contendo os genes *cry1F* e *pat* como o milho 1507, o gene *cp4epsps* como o milho NK603. O gene *cry1F*, isolado de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*, codifica a delta endotoxina que tem demonstrado ser especialmente efectiva no controlo dos insectos lepidópteros, tais como a broca (*Ostrinia nubilalis*), no seu estado larvar. O gene *pat*, isolado do *Streptomyces viridochromogenes*, que confere resistência ao herbicida glufosinato de amónio tem sido introduzido como marcador no processo de selecção.

O gene *cp4epsps* do *Agrobacterium* sp. confere resistência ao herbicida glifosato.

Deste modo, o milho 1507xNK603 pode combater certas pragas de insectos lepidópteros tais como *Ostrinia nubilalis*, e permitir a aplicação de glifosato, herbicida sistémico não selectivo para o controlo de infestantes na cultura do milho.

O objectivo do ensaio é a avaliação do comportamento do milho 1507xNK603, sob aplicações do herbicida glifosato.

A. INFORMAÇÃO GERAL

1. Nome e morada do proponente

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

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

Cada ensaio será acompanhado por um Engenheiro Agrónomo, Investigador Principal

3. Título do Projecto

Pedido de autorização para testar a variedade de milho geneticamente modificado 1507xNK603.

B. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM (A) A PLANTA TRANSFORMADA OU (B) (QUANDO APROPRIADO) AS LINHAS PARENTAIS

1. Descrição:

- a) Família: Gramineae
- b) Género: *Zea*
- c) Espécie: *mays* ($2n = 20$)
- d) Subespécie: nenhuma
- e) Cultivar/linha: variedades experimentais
- f) Nome comum: Milho

2. Reprodução / compatibilidade sexual

a) Informação relativa 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 (se existir)

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 stress hídrico e stress 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 variação 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 incluindo a distribuição de espécies compatíveis na Europa.

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 estado 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 (se houver)

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 não é uma espécie indígena de Portugal nem dos outros países da Europa. É uma espécie originária da América Central. É a 3ª espécie de cereais mais cultivada no mundo.

6. No caso de espécies vegetais não oriundas de nenhum Estado Membro, 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, Helminthosporiose, Fusariose, Morrão, *Crazy top*) e a pragas (*Atomaria lineari*), milípedes (*Blaniulus guttulatus*), miriápode (*Scutigera immaculata*), *Tipula paludosa*, lagarta rosca (*Agrotis ipsilon*), brocas do milho (*Sesamia nonagrioides*, *Ostrinia nubilalis*), crisomelídeos (*Diabrotica virgifera virgifera*, *Diabrotica barberi*, *Diabrotica undecimpunctata howardi*) pulgão do milho (*Rhopalosiphum maidis*), assim como sobre à competição com 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 interage com outros organismos presentes no ambiente, 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 DO 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

A disseminação do milho geneticamente modificado 1507xNK603 ocupará uma área não superior a 500 m² em cada local de ensaio. Esta disseminação será incluída num campo de ensaio que conterà também milho não modificado e outros milhos geneticamente modificados descritos noutros dossiers. Em 2006, a área total do ensaio (todas as variedades e bordaduras incluídas) poderá ocupar 5.000 m² em cada local.

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 ou áreas protegidas oficialmente reconhecidos que possam ser afectadas

Não existem biótipos ou zonas protegidas oficialmente reconhecidos perto das zonas agrícolas onde se localizam os locais de ensaios escolhidos.

F. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A LIBERTAÇÃO

1. Objectivo do ensaio

O objectivo do ensaio é avaliar os efeitos do herbicida glifosato no milho 1507xNK603.

Para 2006 estão planeados dois tipos de ensaios:

- Ensaio para analisar os resíduos do herbicida

Estes ensaios estão planeados no sentido de serem colhidas amostras forragem e grão do milho 1507xNK603, para avaliação do efeito residual do herbicida glifosato no milho 1507xNK603. As amostras serão analisadas noutro país.

- Ensaio para avaliar a selectividade do herbicida glifosato

Estes ensaios serão instalados para registar informação sobre produção de forragem e/ou grão, bem como a observação visual no milho 1507xNK603 para avaliar a selectividade do herbicida glifosato em comparação com testemunha.

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

O ensaio com milho 1507xNK603 está planeado para 4 campanhas do milho (quadro 4).

Quadro 4: Datas e duração previstas para o ensaio

CAMPANHA	DURAÇÃO DA LIBERTAÇÃO
2006	Início de Abril – Fins de Dezembro
2007	Início de Abril – Fins de Dezembro
2008	Início de Abril – Fins de Dezembro
2009	Início de Abril – Fins de Dezembro

3. Métodos de ensaio das plantas geneticamente modificadas

As sementes serão semeadas, uma a uma, em linhas separadas de 70 a 80cm. Cada linha terá um comprimento ajustado a cada tipo de ensaio. O espaço entre sementes na linha será de aproximadamente 25cm. Na extremidade de cada linha ficará um espaço livre para facilitar o acesso às plantas.

O protocolo do ensaio é descrito no Anexo 2.

4. Método para preparação e manio do local de ensaio, antes, durante e após o ensaio, incluindo práticas 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.

Nas condições deste estudo, algumas amostras serão colhidas. No final da libertação, toda a matéria vegetal remanescente que não for recolhida para análises será destruída por corte e trituração e incorporada no solo.

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

A densidade de plantas será de aproximadamente de 80 000 plantas/ha.

G. INFORMAÇÃO SOBRE O CONTROLO, MONITORIZAÇÃO PÓS-LIBERTAÇÃO 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)

De acordo com as exigências das autoridades portuguesas, será mantida uma distância de 400m de isolamento entre o milho transgénico e outros campos de milho não – experimentais. Adicionalmente, o ensaio será envolvido por 4 linhas de bordadura de milho convencional de ciclo vegetativo semelhante que será igualmente destruído no final.

A dispersão de sementes individuais não ocorre. Elas estão fixas ao carolo e cobertas por muitas brácteas que as protegem do contacto exterior.

Para este ensaio, os grãos são colhidos para efeitos de análise. Este processo será realizado por amostragem da espiga completa. Os grãos não utilizados em análise serão destruídos, não entrando por isso na cadeia de alimentação humana ou animal.

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 glufosinato de amónio ou glifosato).

3. Descrição dos métodos de tratamento pós-libertação do local

No final do ensaio, toda a biomassa que não for colhida para análise será destruída por trituração e incorporação no solo. Plantas que possam emergir após o ensaio serão asseguradas a destruição por aplicação de um herbicida adequado (outro que não seja o glufosinato de amónio ou glifosato).

Depois do ensaio a parcela será visitada regularmente durante o ano seguinte, para controlar possíveis plantas de milho que eventualmente apareçam. A próxima utilização do solo com culturas diferentes do milho, será conduzida na forma usual,

particularmente com o uso de herbicidas diferentes de glufosinato de amónio ou glifosato.

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 não dispersão de material.

5. Descrição dos planos de emergência

A regular monitorização dos campos permitirá a imediata identificação de acontecimentos estranhos, devidos a fenómenos externos, como por exemplo, condições climáticas desfavoráveis.

No caso de acontecer alguma emergência, a pessoa de contacto (ver anexo 3) será directamente informada, activando o plano de emergência. Esta pessoa informará de imediato o Instituto do Ambiente.

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

6 Protecção do local do ensaio

Os locais de ensaio serão envolvidos por 4 linhas de bordadura com milho convencional de ciclo vegetativo similar que será igualmente destruído no fim do ensaio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

Chambers, J.A., Jelen, A., Gilbert, M.P., Jany, C.S., Johnson, T.B. and Gawron-Burke, C. (1991) Isolation and characterization of a novel insecticidal crystal protein gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*. *J. Bacter.*, 173, 13, pp. 3966-3976

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.

Commission Decision of 19 July 2004 concerning the placing on the market, in accordance with Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council, of a maize product (*Zea mays* L. line NK603) genetically modified for glyphosate tolerance. (2004/643/EC). Official Journal of the European Union, L 295: 35-37. <http://europa.eu.int/eur-lex/>

Commission Decision of 3 March 2005 authorising the placing on the market of foods and food ingredients derived from genetically modified maize line NK 603 as novel foods or novel food ingredients under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council. (2005/448/EC). Official Journal of the European Union, L 158: 20-22. <http://europa.eu.int/eur-lex/>

Commission Decision of 3 November 2005 concerning the placing on the market, in accordance with Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council, of a maize product (*Zea mays* L., line 1507) genetically modified for resistance to certain lepidopteran pests and for tolerance to the herbicide glufosinate ammonium (2005/772/EC). Official Journal of the European Union, L 291: 42-44. <http://europa.eu.int/eur-lex/>

Craig, W.F. (1977) Production of híbridoi 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

Eckes, P., Vijtewaal, B., Donn, G. (1989) Synthetic gene confers resistance to the broad spectrum herbicide L-phosphinothricin in plants. *J. Cell. Biochem.*, 13D, p. 334

EFSA (2003a) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients

derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-002) Opinion adopted on 25 November 2003

EFSA (2003b) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference C/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import and processing, under Part C of Directive 200/18/EC from Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-003) Opinion adopted on 25 November 2003

EFSA (2004) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the notification (Reference C/NL/00/10) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import and processing, under Part C of Directive 200/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds (Question No EFSA-Q-2004-011) Opinion adopted on 24 September 2004

EFSA (2005a) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds (Application No EFSA-GMO-NL-2004-02) Opinion adopted on 19 January 2005

EFSA (2005b) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the notification (Reference C/ES/01/01) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of Directive 200/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds (Question No EFSA-Q-2004-015) Opinion adopted on 19 January 2005

FDA (1992). Statement of policy: Foods derived from new plant varieties. *Fed Reg.*, 57, 104, pp22984-23005.

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.

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.

Pietrzak, M., Shillito, R.D., Hohn, T., and Potrykus, I. (1986) Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new plant expression vector. *Nucleic Acids Res.*, 14, pp. 5857-5868

Rossmann, E.C. (1949) Freezing injury of inbred and híbridoi maize seed. *Agronomy Journal*, 41:574-583.

Shaw, R.H. (1988) Climatic requirement. *In: Corn and Corn Improvement*, Sprague, G.F. (eds). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of American Inc., and Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, pp.591-623

Wolfersberger, M.G., Hofmann, C. and Luthy, P. (1986) Interaction of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin with membrane vesicles isolated from lepidopteran larval mid-gut. *In: Bacterial protein toxins*, Falmagne, P., Fehrenbech, F.J., Jeljaszewics, J. and Thelestam, M. (eds). Gustav Fischer, New York, pp.237-238.

Wych, R.D. (1988) Production of híbridoi 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 A
LIBERTAÇÃO DELIBERADA DO MILHO
1507xNK603**

AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL PARA A LIBERTAÇÃO DELIBERADA DO MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO 1507xNK603

Esta notificação serve para permitir a libertação deliberada do milho 1507xNK603 que expressa a proteína com actividade insecticida *cry1F* que lhe confere resistência a certos insectos lepidópteros e as proteínas PAT e CP4EPSPS que respectivamente, lhe conferem tolerância aos herbicidas glufosinato de amónio e glifosato.

O milho 1507xNK603 obtido, por processos tradicionais de melhoramento, do cruzamento entre os milhos geneticamente modificados 1507 e NK603 é resistente a certos insectos lepidópteros e tolerante ao herbicida glufosinato de amónio, tal como o milho 1507 e tolerante ao herbicida glifosato, tal como o milho NK603.

O objectivo do ensaio é avaliar, nas condições europeias, os efeitos do herbicida glifosato no milho 1507xNK603.

O objectivo desta avaliação do risco ambiental (e.r.a.) é, numa base caso a caso, identificar e avaliar potenciais efeitos adversos do milho 1507xNK603, directos e indirectos, imediatos ou a longo prazo na saúde humana ou no ambiente. A e.r.a. para o registo seguro do milho 1507xNK603, tem sido conduzida tendo em vista a identificação da necessidade de manejo do risco e se isso acontecer, quais os métodos mais apropriados a usar.

A e.r.a. para o registo seguro do milho 1507xNK603, foi realizada comparando características identificadas neste milho, as quais podem ter potencial para causar efeitos adversos em relação às mesmas características nos indivíduos equivalentes não modificados.

As conclusões do potencial impacto ambiental que possam resultar do registo do milho 1507xNK603 são apresentadas em seguida.

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 1507xNK603 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 das proteínas Cry1F, PAT e CP4 EPSPS no milho 1507xNK603 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 1507xNK603, poderão ser aplicadas práticas agronómicas correntes, tais como o uso de herbicidas (com excepção do glufosinato de amónio e do glifosato) ou remoção manual ou mecânica

2. Vantagens ou desvantagens selectivas conferidas à GMHP

Como pretendido e quando cultivado, a expressão das proteínas Cry1F, PAT e CP4 EPSPS no milho 1507xNK603, confere vantagens específicas aos ambientes agrícolas: resistência a alguns insectos lepidópteros, tais como *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia sp.*, e tolerância aos herbicidas glufosinato de amónio e 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 1507xNK603 não lhe conferem nenhuma vantagem selectiva em relação a outras plantas no ambiente natural, i.e. fora do ambiente agrícola. Os ataques de insectos são um dos múltiplos factores bióticos e abióticos que impedem o crescimento do milho fora do ambiente agrícola. Assim, a expressão da proteína Cry1F que confere resistência a alguns insectos lepidópteros não pode ser considerada uma vantagem selectiva fora do ambiente agrícola.

Além disso, a expressão das proteínas PAT e CP4 EPSPS, no milho 1507xNK603, também não confere, vantagens selectivas 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 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 cumpridos 400 metros de isolamento, de acordo com as exigências das autoridades portuguesas, entre o milho experimental 1507xNK603 e qualquer outro campo de milho não experimental. Adicionalmente, o local de ensaio será rodeado de 4 linhas de bordadura de milho comercial com data de maturação similar que será destruída no final do ensaio.

Conforme discutido no Ponto 2., a modificação genética do milho 1507xNK603, 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)

A modificação genética no milho 1507xNK603 permite beneficiar de um mecanismo, altamente efectivo e ambientalmente seguro, que permite controlar alguns insectos lepidópteros, tais como *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia spp.* No entanto, a eficácia do milho poderia ser reduzida se as pragas referidas desenvolvessem resistência à proteína Cry1F tal como a expressa no milho 1507xNK603 durante a fase de crescimento. A ocorrência desse fenómeno, ou seja, a resistência dos insectos, é reduzida no caso dos ensaios uma vez que se restringem a áreas pouco significativas.

O risco da resistência dos insectos é pois, reduzido. No entanto, quando a cultura comercial for planeada uma proposta detalhada para o manejo da resistência dos insectos (IRM) será desenvolvida, no contexto do produto disponível, e aplicado quando o milho 1507xNK603 entrar no mercado da UE. Por exemplo a implementação de refúgios (zonas cultivadas com milhos não resistentes aos insectos lepidópteros) será implementada para assegurar que os raros insectos que se possam tornar resistentes à toxina Cry1F, e sobreviverem, possam cruzar-se com insectos sensíveis. Desta forma, as suas descendências manter-se-ão sensíveis e serão controladas pelas culturas de milho Bt.

Nenhum outro impacto ambiental de curto ou longo prazo resultante das interacções directas e indirectas do milho 1507xNK603 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, simbioses (quando aplicável), parasitas e patógenos

A libertação deliberada do milho 1507xNK603 resultará em impactos ambientais reduzidos de carácter imediato ou a longo prazo resultante das interacções directas e indirectas do milho 1507xNK603 com outros organismos diferentes dos organismos alvo, mesmo tendo em conta organismos que interactuem com os organismos alvo, incluindo impacto nos níveis populacionais dos outros organismos. A especificidade da actividade biológica e a ausência de toxicidade para os outros organismos das proteínas Cry1F, PAT e CP4 EPSPS, confirma que não haverá efeitos adversos, nesses organismos, provocados pelo milho 1507xNK603.

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 1507xNK603 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 1507xNK603, 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 1507xNK603.

Além disso, o milho 1507xNK603, sujeito a ensaios, não entrará na cadeia alimentar.

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.

Além disso, o milho 1507xNK603, foi obtido por processos tradicionais de melhoramento através do cruzamento entre as linhas geneticamente modificadas 1507 e NK603, não sendo conhecidos componentes que causem ou venham a causar, possíveis efeitos imediatos ou de longo prazo na saúde animal.

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 das proteínas Cry1F, PAT e CP4 EPSPS no milho 1507xNK603, não causará nenhum possível efeito imediato ou de longo prazo nos processos biogeoquímicos resultante de potenciais interacções directas e indirectas do milho 1507xNK603 e os organismos alvo e outros organismos na sua vizinhança.

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 para o milho 1507xNK603, são idênticas àquelas que se usam para os milhos não geneticamente modificados, com excepção do regime de herbicida e plano de monitorização proposto para a cultura do milho 1507xNK603.

Por necessidade de estudo, algumas amostras serão colhidas. 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 glufosinato de amónio e glifosato.

Conclusões

A avaliação do risco ambiental não identificou riscos para a saúde humana e animal ou do ambiente resultantes dos ensaios de campo com o milho 1507xNK603. Esta afirmação baseia-se em informação contida nesta notificação e nas seguintes notas de conclusão:

- Existe uma reduzida probabilidade do milho 1507xNK603 se tornar ambientalmente persistente ou invasor em forma de infestante;
- A expressão das proteínas Cry1F, PAT e CP4 EPSPS, no milho 1507xNK603, não lhe conferem nenhuma vantagem selectiva fora do ambiente agrícola;
- Não existem na EU espécies geneticamente relacionadas com o milho. A modificação genética no híbrido 1507xNK603 não introduz nenhuma vantagem selectiva às plantas de milho fora dos ambientes fortemente manuseados em agricultura;
- A libertação deliberada do milho 1507xNK603 resulta em impactos reduzidos no ambiente quer imediatos, quer de longo prazo resultantes de interacções directas e indirectas do milho 1507xNK603 com organismos diferentes dos organismos alvo;
- A modificação genética do milho não introduz 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 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 1507xNK603 não causará nenhum efeito imediato ou de longo prazo nos processos biogeoquímicos;
- As práticas específicas de cultura, manejo e colheita, usadas para o milho 1507xNK603, são idênticas àquelas que se usam para milho não geneticamente modificado;
- A potencial redução no controlo de alguns insectos lepidópteros, se os insectos alvos desenvolverem resistência à proteína Cry1F que o milho 1507xNK603 expressa, tem sido identificado o único potencial risco resultante da interacção do milho 1507xNK603 com os organismos alvo. No caso dos ensaios, a probabilidade de ocorrência desta possibilidade é reduzida. O risco de desenvolvimento de resistência por parte dos organismos alvo é pois, reduzido. No entanto, uma estratégia IRM será desenvolvida em contexto de colocação no mercado do milho 1507xNK603.