

Processo: 01200.002109/2000-04

Pleito: Liberação Comercial de milho resistente a insetos da ordem Lepidoptera (Milho Bt)

Data de Protocolo: 30/06/2000

Requerente: Syngenta Seeds Ltda

CQB: 001/96

CNPJ: 49.156.326/0001-00

Endereço: Av. das Nações Unidas, 18001 – 4º andar – CEP: 04795-900 -São Paulo/SP

Presidente da CIBio: LILIAN AGUIAR SALDANHA

Descrição do OGM: Milho resistente a insetos da ordem Lepidoptera (Milho Bt)

Uso proposto: Cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo, liberação e descarte do milho Bt11

1. Fundamentação Técnica da Decisão do Relator:

O relatório da Novartis Seeds Ltda apresentado pela Syngenta é de longe o mais completo de todos os que tive oportunidade de examinar em muitos anos de exercício na CTNBio. Tendo recebido a incumbência de analisar o requerimento apresentado pela Syngenta Seeds relativo a liberação comercial do milho Bt 11 e por não ser um especialista na área de endotoxinas do *Bacillus thuringiensis*, produtores destas toxinas utilizadas hoje largamente para o controle de insetos por engenharia genética, procurei a Dra Rose Monnerat da EMBRAPA/ Cenargen na minha opinião a maior especialista brasileira nesta área que entretanto utiliza o controle direto de pragas através das bactérias citadas e não através da engenharia genética. A análise que apresento e endosso abaixo resulta desta consulta que transcrevo praticamente de forma literal, com alguns destaques em negrito

“ *Bacillus thuringiensis* (Bt) é uma bactéria gram positiva, da família Bacillaceae que produz no momento de sua esporulação inclusões protéicas cristalinas. Estas inclusões contêm proteínas denominadas delta-endotoxinas que formam atualmente uma família de 300 membros, classificados em 49 grupos (http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/). Elas são produzidas sob a forma de protoxinas, as quais são transformadas em peptídeos tóxicos no intestino do inseto, pela ação do pH alcalino intestinal e de proteases. A toxina ativada causa a lise das células epiteliais e a morte das larvas (Monnerat & Bravo, 2000; de Maagd et al., 2004).

B. thuringiensis pode ser considerado como o agente biológico de maior potencial para o controle de insetos-praga florestais, agrícolas e vetores de doença, graças à especificidade das δ -endotoxinas aos insetos e invertebrados-alvo, e sua inocuidade aos vertebrados e meio ambiente, inclusive insetos benéficos e inimigos naturais (Krieg & Langenbruch, 1981), fazendo deste agente um componente-chave em estratégias de manejo integrado de pragas (Schnepf et al, 1998). Bioinseticidas à base de Bt têm sido usados em todo o mundo com sucesso há quase 6 décadas, correspondendo a cerca de 90% dos biopesticidas comercializados

no mundo e a menos de 2,0% do mercado total de inseticidas (Baum et al., 1999; Shelton et al., 2002). Essas formulações são específicas para controlar as pragas-alvo e não apresentam efeitos deletérios em organismos não-alvo como insetos benéficos, pássaros, peixes e mamíferos, incluindo humanos (US EPA, 1988, citada em Bertz et al., 2000), podendo ser aplicado inclusive em água para consumo humano para controlar larvas do mosquito *Aedes aegypti*. **As grandes limitações da utilização desses produtos deve-se ao fato da proteína do Bt ser sensível a radiação ultra-violeta, devendo ser aplicada em horários de pouca insolação e agir por ingestão, não estando disponível para consumo de insetos que se encontram em partes não expostas da planta.** Assim, a introdução dos genes que codificam para essas toxinas em plantas é uma alternativa para a ampliação do uso de Bt, e as plantas geneticamente modificadas, presentes no mercado desde 1996, se constituem numa tática que tem crescido em grande escala nos últimos anos (Shelton et al., 2002). O milho e algodão Bt em 2004 foram plantados em 22,4 milhões de hectares em 2004 em todo o mundo, sendo esta área 25% superior à área plantada em 2003.

Durante esses dez anos após o início da utilização de plantas transgênicas, inúmeros trabalhos foram e têm sido realizados para avaliar os impactos negativos e positivos advindos da adoção desta tecnologia. Recentemente dois trabalhos que compilam esses resultados foram publicados nas revistas *Nature Biotechnology* (2006) e *AgBioForum* (2005). O primeiro artigo enfatiza a importância de se realizar experimentos bem desenhados e embasados para a geração de dados e conclui que as plantas Bt são mais específicas e apresentam menos efeitos colaterais em parasitoides e predadores do que a maioria dos inseticidas correntemente utilizados. Para lavouras de milho e algodão, foi demonstrado que as aplicações de inseticidas foram substancialmente reduzidas após a adoção de variedades transgênicas a base de Bt. Nestes sistemas e em outros, a tecnologia Bt pode contribuir para a conservação dos inimigos naturais a é uma ferramenta para sistemas de manejo de pragas (Romeis et al., 2006). O segundo artigo quantificou o impacto cumulativo global da tecnologia de modificação genética entre 1996 e 2004 na economia de utilização de pesticidas e emissão de gases. Estima-se que desde 1996, os agricultores deixaram de usar 172 milhões de quilogramas de ingredientes ativos de defensivos agrícolas em função da tecnologia Bt . O algodão GM resistente a insetos foi a cultura que proporcionou o maior ganho ambiental, com uma redução no uso de inseticidas de 77 milhões de quilogramas (Brookes & Barfoot, 2005). Diante do panorama da cotonicultura brasileira, que tem utilizado grandes quantidades de pesticidas

para controle de insetos, o algodão e o milho Bt são ferramentas importantes para a agricultura.

Quando se analisam comparativamente o controle de insetos pelas toxinas Bt diretamente pela bactéria ou por plantas transgênicas cabem algumas perguntas importantes que são

1- Existem diferenças entre a toxina Cry1Ac produzida pelo microrganismo e produzida pela planta?

A trajetória de uso do gene *cry1Ac* isolado do *Bt kurstaki* em plantas exige que ele seja modificado antes de ser inserido na planta seja ela soja, algodão, milho, canola ou outra para que a proteína seja expressa por uma espécie eucariota diferente portanto de uma bactéria. Esta modificação é necessária pois o gene de uma bactéria para ser expresso numa planta, os códons para síntese de aminoácidos precisam ser modificados e o "códon usage" tem que ser lido corretamente neste novo organismo. Essa modificação permite portanto que o gene de um procarionte, possa ser corretamente expresso por um eucariote, sem que haja modificações na estrutura do produto final.

No relatório da requerente a proteína foi muito bem caracterizada e demonstrou ser similar a produzida pelo microrganismo, em relação ao peso molecular, imunorreatividade e espectro de bioreatividade (<http://www.epa.gov/pesticides/ingredients/factsheets...>). Desta forma, os testes realizados com a toxina produzida em outros microrganismos recombinantes como *Escherichia coli* são aceitos pelo fato da toxina expressa em bactérias ou na planta ser consideradas biologicamente similares (Dutton et al., 2003; Romeis et al., 2006). É importante ver argumentos do parecerista quanto a críticas feitas a respeito do uso genérico de métodos de transformação na análise feita para liberação comercial do algodão RR

2. A proteína Bt é segura para mamíferos?

A história do uso e os dados de literatura sugerem que o *B. thuringiensis* não é tóxico para a saúde humana e de outros vertebrados. A baixa toxicidade dos produtos a base de Bt contendo misturas de proteínas Cry tem sido demonstrado há mais de 50 anos. A proteína Cry1Ac está classificada na categoria toxicológica III (DL50 > 700 mg/kg de peso corporal), sendo rapidamente degradadas pelo suco gástrico (<1 min.) e não apresentando similaridades significativas com seqüências de outras toxinas conhecidas ou alergênicas. Essas proteínas não estão portanto

implicadas em reações tóxicas ou alérgicas em humanos ou animais (<http://www.epa.gov/pesticides/ingredients/factsheets...>; [www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/mh-dm/ofb-bba/...](http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/mh-dm/ofb-bba/)).

3- Como se comporta a proteína Bt de plantas transgênicas no solo do ponto de vista da sua degradação comparada a mesma proteína usada diretamente a partir de bactérias?

As proteínas Cry podem ser adsorvidas pelo solo, entretanto inúmeros estudos demonstraram que essas proteínas são rapidamente degradadas no solo, em taxas comparáveis a degradação dessas proteínas aplicadas como biopesticidas (Palm et al., 1996). Estudos mais específicos realizados com a proteína Cry1Ac produzida pelo algodão mostraram que esta toxina é rapidamente degradada no solo (Palm et al., 1996; Saxena et al., 1999). Baseado nessas informações existem fortes evidências de que as proteínas Cry em resíduos de culturas não representam um risco significativo ao ambiente por serem rapidamente degradadas (Bertz et al., 2000), fato que tem sido confirmado com trabalhos realizados mais recentemente (Head et al., 2002).

Nota do parecerista : Guenther Stotzky da Universidade da New York University em Congresso promovido pela Academia de Ciências dos Estados Unidos que assisti em 2000, (Post Harvest Monitoring of GM Plants US NAscience 2000), apresentou seus resultados sobre o comportamento de plantas de milho Bt depois da colheita quando incorporadas no solo comparando o destino e efeito da proteína Bt quando comparada a proteína Bt de bactérias . A decomposição do milho é mais lenta em função do teor de lignina . A proteína é liberada gradualmente e permanece adsorvida a partículas de argila no solo por oito meses . Neste período ela não teve nenhum efeito em microorganismos, bactérias do solo, actinomicetos e outros fungos bem como nenhum efeito prejudicial em nematoides e outros integrantes da fauna usual de solos

4- Qual o impacto ambiental relacionado ao uso da tecnologia Bt

Uma das maiores vantagens da utilização da tecnologia Bt é a redução da necessidade do emprego de inseticidas convencionais, trazendo com isso benefícios para a saúde humana e para o meio ambiente (Shelton et al., 2002). Trabalhos publicados nos últimos anos relatam o ganho ambiental promovido pelo uso de plantas resistentes a insetos. No caso do algodão

americano, o número médio de aplicações diminuiu de 4,6 entre 1992-1995 para 0,8 entre 1999-2001, devido à introdução do algodão Bt. Na China o algodão Bt causou um decréscimo de 60-80% do uso de inseticidas de aplicação foliar (Romeis et al., 2006). Estima-se que desde 1996, os agricultores deixaram de usar 172 milhões de quilogramas de ingredientes ativos de defensivos agrícolas. O algodão GM resistente a insetos foi a cultura que proporcionou o maior ganho ambiental, com uma redução no uso de inseticidas de 77 milhões de quilogramas (Brookes & Barfoot, 2005).

5 – Quais são os efeitos da tecnologia Bt em insetos-alvo e não alvo?

Muitos trabalhos foram e têm sido realizados para definir os efeitos diretos e indiretos da toxina Cry1Ac em insetos benéficos. Os dados levam a uma convergência de conclusões que indicam que as plantas Bt são mais específicas aos insetos-alvo e causam menos efeitos colaterais aos parasitóides e predadores do que a maioria dos inseticidas correntemente utilizados. No caso das lavouras de algodão Bt e milho Bt foi demonstrado que as aplicações de inseticidas podem ser substancialmente reduzidas pela adoção de variedades Bt. Além disso, a tecnologia Bt pode contribuir para a preservação dos inimigos naturais e ser uma importante ferramenta para o manejo integrado de pragas (Romeis et al., 2006).

No algodão Bollgard (Mon 810), aprovado para comercialização no Brasil, a proteína é expressa em doses muito baixas no pólen, néctar e na seiva do algodoeiro (Grossi de Sá et al., 2006). Nesta concentração, é improvável que variedades do algodão Bollgard sejam um risco potencial aos insetos que se alimentam desses tecidos, tais como lepidópteros não-alvo, abelhas e insetos sugadores, pois as mesmas estariam expostas a baixíssimas quantidades de toxina. No caso do milho BT 11 este tema é apresentado no capítulo 4 do relatório da requerente onde se afirma que o efeito da proteína em insetos não alvo é muito baixa pelas mesmas razões citadas acima para o algodão (Campbell et al 1991, EPA 1988 Flexner et al 1986, Idris e Graflus 1993, Melin e Cozzi 1990 e Vinson 1989). É importante salientar ainda que um trabalho recentemente realizado pela Embrapa mostrou que não tem havido flutuações significativas em nenhuma das espécies de lepidópteros não-alvo coletadas em campos de algodão Bt neste período embora curto de uso desta tecnologia (Pinheiro et al., 2004) no Brasil.

As considerações finais da Dra Rose Monerat são as seguintes:

A contaminação ambiental gerada pelo emprego de agroquímicos na agricultura brasileira é um fato preocupante pois põe em risco todo o ambiente e a saúde dos seres vivos. Muitas evidências existem que subsidiam a segurança do uso do algodão transgênico, entretanto vale lembrar que as conseqüências reais dependem do monitoramento dos efeitos deste plantio no campo, efeitos esses que com efeito estão sendo monitorados pelos inúmeros trabalhos em execução pelos cientistas brasileiros. Estes trabalhos poderiam estar inclusive mais adiantados caso o cultivo de Plantas GM não tivesse sido proibida por tantos anos.

4. Referências Bibliográficas

Baum, J. A.; Johnson, T. B.; Carlton, B. C. 1999. *Bacillus thuringiensis*: Natural and recombinant bioinsecticide products. In: *Biopesticides: Use and Delivery*, Hall, F. R. and Menn, J. J., Eds., Humana Press, Totowa, NJ, 189-210.

Bertz, F.; Hammond, B.; Fuchs, R. 2000. Safety and Advantages of *Bacillus thuringiensis*-Protected Plants to Control Insect Pests. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32, 156-173.

Brookes, G.; Barfoot, P. 2005. GM Crops: The Global Economic and Environmental Impact - The First Nine Years 1996-2004. *AgBio Forum*, Volume 8, p. 187-196.

de Maagd, R.A.; Bravo, A.; Berry, C.; Crickmore, N.; Schnepf, H.E. 2003. Structure, diversity, and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. *Annu. Rev. Genet.*, 37, p. 409-433.

Dutton, A.; Romeis, J.; Bigler, F. 2003. Assessing the risks os insect resistant transgenic plants on entomophagous arthropods: t-maize expressing Cry1Ab as a case study. *Biocontrol*, 48, 611-636.

Grossi de Sá, M.F., Lucena, W.; Souza, M.L.; Nepomuceno, E.O.; Osir, E.O.; Amugune, N.; Hoa, T.T.C.; Hai, T. N.; Somers, D.A.; Romano, E. Transgene Expression and Locus Structure of Bt Cotton. In: Hillbeck, A; Andow, D; and Fontes, E. (Org.). *Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms - Methodologies for Assessing Bt Cotton in Brazil*. 1 ed. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2006, v. 2, p. 93-107.

Head, G.; Surber, J.B.; Watson, J.A.; Martin, J.W.; Duan, J.J. No Detection of Cry1Ac Protein in Soil After Multiple Years of Transgenic Bt Cotton (Bollgard) Use. *Environmental Entomology*, Volume 31, Number 1, February 2002, pp. 30-36(7).

Krieg, A.; Langenbruch, G.A. 1981. Susceptibility of arthropod species to *Bacillus thuringiensis*. In: BURGESS, H.D. (Ed.). *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. London : Academic. p.837-896.

Monnerat, R.G. & Bravo, A. "Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: Modo de ação e resistência". In: Controle Biológico, Ed.: Melo, I.S & Azevedo, J.L, Jaguariúna, SP, Embrapa Meio Ambiente, 2000: 163-200

Palm, C.J.; Schaller, D.L.; Donegan, K.K.; Seidler, R.J. Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* delta-endotoxin. *Can. J. Microbiol.* 42:1258-1262. (1996).

Pinheiro, E.M.L.; Fontes, E.M.G.; Becker, V.O.; Avila, D.; Frizzas, M.R. Avaliação Ecológica de Riscos do Algodão Bt: Efeito sobre Lepidópteros Não alvo. *Anais do Talento Estudantil*, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Dezembro 2004.

Romeis, J.; Meisse, M.; Bigler, F. 2006. Transgenic Crops expressing *Bacillus thuringiensis* and Biological Control. *Nature Biotechnology*, 24, 63-71.

Saxena, D.; Flores, S.; Stotzky, G. 1999. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. *Nature*, 402, 480.

Schnepf, E.; Crickmore, N.; Van Rie, J.; Lereclus, D.; Baum, J.; Feitelson, J.; Zeigler, D. R.; Dean, D. H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol. And Molec. Biol. Rev.* v.62, p.775-806.

Shelton, A. M.; Zhao, J.-Z.; Roush, R. T. 2002. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic Plants. *Ann. Rev. Entomol.* 47:845-881.

http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt

<http://www.epa.gov/pesticides/ingredients/factsheets...>

<http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/mh-dm/ofb-bba/...>

Uma questão não abordada pela Dra Rose Monnerat foi o efeito secundário do uso da tecnologia Bt em milho impedindo a infestação de caules e espigas por fungos que produzem micotoxinas cancerígenas cujas conseqüências estão se agravando em todo o mundo particularmente no caso de *Fusarium*. Várias toxinas de *Fusarium* são citadas na tabela abaixo. A incidência de lagarta da espiga facilita o desenvolvimento de fungos e este efeito é drasticamente reduzido no milho Bt

O segundo parecer considerado é do Professor Fernando Valicente que corrobora inteiramente as afirmações do relatório da requerente e apóia a liberação do milho BT11 .O Dr Fernando Hercos Valicente, trabalho com *Bacillus thuringiensis* há mais de 12 anos, fazendo prospecção gênica, caracterização molecular de cepas e realizando biotestes de eficiência de cepas de Bt no controle da lagarta do cartucho em milho. Transcrevo abaixo o seu parecer :

Table 1 - Origin of principal mycotoxins occurring in common feeds and forages

| Mycotoxins | Fungal species |
|--|---|
| Aflatoxins | <i>Aspergillus flavus</i> ; <i>A. parasiticus</i> |
| Cyclopiazonic acid | <i>A. flavus</i> |
| Ochratoxin A | <i>A. ochraceus</i> ; <i>Penicillium viridicatum</i> ; <i>P. cyclop</i> |
| Citrinin | <i>P. citrinum</i> ; <i>P. expansum</i> |
| Patulin | <i>P. expansum</i> |
| Citreoviridin | <i>P. citreo-viride</i> |
| Deoxynivalenol | <i>Fusarium culmorum</i> ; <i>F. graminearum</i> |
| T-2 toxin | <i>F. sporotrichioides</i> ; <i>F. poae</i> |
| Diacetoxyscirpenol | <i>F. sporotrichioides</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. poae</i> |
| Zearalenone | <i>F. culmorum</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. sporotrichioid</i> |
| Fumonisin; moniliformin; fusaric acid | <i>F. moniliforme</i> |
| Tenuazonic acid; alternariol; alternariol methyl ether; altenuene | <i>Alternaria alternata</i> |
| Ergopeptine alkaloids | <i>Neotyphodium coenophialum</i> |
| Lolitre alkaloids | <i>N. lolii</i> |
| Ergot alkaloids | <i>Claviceps purpurea</i> |
| Phomopsins | <i>Phomopsis leptostromiformis</i> |
| Sporidesmin A | <i>Pithomyces chartarum</i> |

1 Syngenta Seeds Ltda solicita a CTNBio a liberação comercial do milho geneticamente modificado (Milho Bt11) tolerante a insetos da ordem Lepidóptera. O milho a ser liberado foi geneticamente modificado e transformado com um gene de uma bactéria originária de solo, *Bacillus thuringiensis*. O gene *cry1Ab*, proveniente desta bactéria, é expresso no milho transgênico e codifica uma proteína (no processo enviado pela Syngenta denominada de proteína *Btk*) específica e que confere resistência a alguns insetos da ordem Lepidóptera.

2 O relatório é amplo e aborda o impacto ambiental na eventual liberação do milho transgênico, segurança alimentar e saúde humana. Em relação aos insetos alvos testados, este evento se mostrou tolerante ao ataque da *Helicoverpa zea*, onde praticamente não ocorreu dano nas espigas. O milho Bt11 também se mostrou tolerante ao ataque da lagarta do artucho, *Spodoptera frugiperda*. Os mesmos resultados foram observados numa fazenda experimental, localizada em Iberlândia, MG, em experimentos de campo realizados no ano de 2000. Nestes ensaios, o milho Bt11 também mostrou um efeito marcante sobre *Mocis latipes* (praga da ordem lepidóptera que se alimenta de folha). Este estudo e vários outros mostraram que não houve diferenças na ocorrência de percevejos predadores nem de tesourinhas (*Dorus luteipes*) entre o

milho transgênico e o não transgênico. O milho transgênico não apresentou ação sobre insetos não alvo do milho Bt11, inclusive sobre predadores e o parasitóide de ovos *Trichogramma* sp. Não causa danos em vertebrados e invertebrados aquáticos e insetos benéficos não alvo (proteína Btk não causou dano em abelhas, *Chrisopa*, Hymenopteros, parasitas e joaninhas).

A determinação clássica da herança e estabilidade fenotípica e genética, mostrou que o gene *Btk* é herdado como um locus dominante simples (3:1) e, que não houve alteração no fenótipo da planta de milho. Pelo teste de Southern blot não foi detectada a presença do gene *ampR* (resistência a antibiótico) na planta, e apenas uma cópia do gene *cry1Ab* foi inserido na planta.

O nível de proteína Btk em tecidos foi testado e a maior concentração encontra-se nas folhas, o que era esperado. O nível desta proteína no colmo, palha e grãos é bem menor. Do mesmo modo, a proteína Btk não afetou atributos fenotípicos da planta e de produtividade. Nenhuma diferença foi encontrada na produção de grãos, umidade na colheita, acamamento da raiz, altura de espiga, altura de plantas e unidades técnicas para embonecamento. A proteína Btk não alterou a morfologia da planta. No solo, menos de 2% da proteína Btk foi recuperada e, não mostraram atividade biológica após 1 mês de incubação.

Em relação a segurança alimentar do milho Bt11, este evento mostrou ausência de toxidez a mamíferos e ratos alimentados durante 14 dias. Em mamíferos não há receptores intestinais para esta proteína atuar, e mesmo as condições ácidas desnaturam proteínas Btk. A planta de milho expressando a proteína Btk, não apresenta efeito nos processos metabólicos da planta de milho, como também não apresenta reações alérgicas em humanos. Não há homologia da proteína do gene *cry1Ab* com qualquer seqüência de alergênico protéico conhecido. A proteína tóxica codificada pelo gene *cry1Ab* é de alto peso molecular, não é volátil e não é capaz de ser absorvida pela pele.

Não houve diferença para a nutrição animal e mesmo na composição nutricional entre o milho transformado expressando a proteína Btk e o milho não transformado. Também não houve diferença na digestibilidade da proteína Btk, do mesmo modo que não foi encontrada proteína Btk no leite de animais alimentados com o milho transformado. Foi constatado que a proteína Btk se quebra depois que o milho é ensilado. Vários trabalhos indicaram que o milho expressando a proteína Btk reduz a incidência de *Fusarium* (*Fusarium ear rot*), doença na espiga do milho, o que o torna mais seguro para o consumo animal e humano, pois animais não se alimentariam de espigas de milho contaminadas com fungos. Pesquisas realizadas pela Iowa State University afirmam que este milho transgênico reduz duas ameaças para as plantas de milho: as "corn borers" (brocas do colmo) e fungos tóxicos.

A equivalência nutricional (essencial), os níveis de gordura, amido, minerais, vitaminas, Cu, Mg, Mn, Zn, N, vitaminas B1 e B2, proteínas, matéria seca, proteínas crus e ácidos graxos foram os mesmos entre o milho transformado e o milho não transformado, havendo também equivalência na propriedade dos grãos, sendo eles, mesmo percentual de amido, proteínas, óleo, fibra, tamanho e densidade dos grãos.

Em relação a segurança ambiental, o milho transformado Bt11 não apresenta qualquer efeito negativo sobre insetos do arceiro. O *B. thuringiensis* é uma bactéria natural do solo e é usada como biopesticida há mais de 40 anos. Vários estudos comprovam a eficiência e especificidade deste patógeno no controle biológico de insetos pragas.

A lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* é hoje a principal praga da cultura do milho no Brasil atualmente, chegando a reduzir a produção de grãos em até 34%. No controle deste inseto a campo em determinadas regiões do Brasil, chega-se a aplicar 16 vezes inseticida químico durante um ciclo da cultura (observação pessoal). O que corre hoje é o uso indiscriminado de inseticidas e mesmo uma mistura de produtos químicos na tentativa de controlar este inseto. Com esta aplicação maciça de químicos, cria-se um deserto agrícola nestas regiões, pois os inimigos naturais

ão os primeiros a serem eliminados. Em regiões de fronteira agrícola como Barreiras BA, e em Campo Verde MT, a aplicação de produtos químicos é feita semanalmente. Isto contribui para a degradação do meio ambiente, poluição ambiental e uma quebra de todo o ecossistema na cultura do milho e mesmo de outras culturas em rotação.

Neste modo, o milho Bt11 (Syngenta) citado neste laudo que foi estudado e testado tanto no Brasil quanto no exterior, é uma excelente opção tanto para o pequeno, médio e grande agricultor, que terá a chance de obter uma semente já contendo o gene de resistência a lagarta do cartucho. O milho Bt11 vem sendo estudado e usado em vários países há mais de 10 anos e o relatório enviado para análise mostra vários resultados de segurança alimentar, ambiental e de saúde humana, bem como estabilidade genética e fenotípica da planta de milho transformada. Deste modo pode-se elevar a cultura do milho a um outro patamar, em que não se aplique esta quantidade maciça de produtos químicos. Com o uso do milho Bt11 com certeza a quantidade de inseticida químico aplicado a campo será drasticamente reduzida e, mesmo a redução dos coquetéis de químicos aplicados no mesmo tanque de pulverizador. Assim, evita-se a contaminação dos aplicadores, alimentos (onde raramente é obedecido o período de carência após a aplicação do produto químico), rios e nascentes. Tenho a certeza que com a introdução de um milho que evite o dano causado por insetos lepidópteros que atacam a cultura do milho, haverá um ganho em todos os níveis: meio ambiente e saúde humana, aumentando a produtividade com sustentabilidade.

Do terceiro parecer que analisa o pedido da Syngenta para liberação do milho BT11 e do Professor Wagner Ramalho que abaixo transcrevo

1 - Aspectos positivos do emprego de híbridos de milho resistente a lagartas.

É conhecido que sob condições tropicais, a ocorrência de insetos é maior e os danos causados são também muito mais acentuados que em condições temperada. Dentre as pragas mais importantes no milho destaca-se a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda*. Por isso, ela receberá maior atenção no nosso parecer. As perdas em função da infestação de *S. frugiperda*, foram estimadas no Brasil, por Cruz et al 1999 como sendo de 400 milhões de dólares ao ano. Como a partir de 1999 tem sido constatado incremento na ocorrência de *Spodoptera*, os prejuízos causados atualmente são acima da cifra anteriormente relatada. A principal medida de controle tem sido o uso de inseticidas. Muitas vezes sendo necessário a realização de mais de uma aplicação. "Qualquer tecnologia capaz de reduzir a aplicação desses produtos químicos é muito vantajosa sob vários aspectos de logística da atividade econômica, ambiental e de segurança do trabalhador rural" (Siqueira et al 2004).

Uma outra medida de controle desta lagarta seria o uso de cultivares resistentes. A obtenção de cultivares resistentes a insetos por meio de melhoramento genético convencional não tem obtido o sucesso almejado. No caso da *Spodoptera* várias tentativas foram e estão sendo realizadas com sucesso limitado (Walquil, et al 2002). O milho, produto da tecnologia do DNA recombinante de proposta (Bt11) tem como produto uma endotoxina que é o mesmo princípio ativo de um inseticida biológico comercialmente utilizado. Formulações com o produto do *Bacillus Thuringiensis* (Bt) vêm sendo utilizados como bioinseticida há mais de 40 anos, com sucesso.

No processo são apresentados alguns resultados que mostram a efetividade do milho Bt em controlar as lagartas do milho. Mostram também, que esse controle reverte em maior produtividade de grãos do milho híbrido Bt em

relação ao híbrido isogênico não Bt. Resultados semelhantes foram relatados envolvendo outros híbridos contendo o gene cry 1ab (WALQUIE et al 2002 e FERNANDES et al 2003). Há informações de que híbridos de milho contendo genes cry vêm sendo cultivados há mais de dez anos em extensas áreas de alguns países. Não há nenhuma informação de algum dano que tenha causado ao meio ambiente ou à saúde humana e de outros animais.

- 2- Riscos da adoção da tecnologia

Como não existe nenhuma atividade humana que não envolva risco, é necessário discutir os possíveis riscos da adoção dessa tecnologia em relação aos seus benefícios. Vários aspectos poderiam ser abordados. O enfoque será direcionado àqueles que estão mais diretamente relacionados a produção agrícola propriamente dita.

A - Fluxo Gênico

O risco da passagem do transgene para outros indivíduos na natureza e suas conseqüências, sobretudo na biodiversidade é sem dúvida, um dos efeitos diretos que tem despertado maior atenção no caso dos transgênicos. O fluxo gênico pode ser vertical quando a passagem da informação genética ocorre entre indivíduos da mesma espécie, ou horizontal, quando a troca de informações genéticas se dá entre indivíduos de espécies diferentes, distantes geneticamente. O fluxo gênico "horizontal" entre o milho Bt e outras espécies, mesmo aquelas muito relacionadas, têm probabilidade praticamente nula. As espécies selvagens relacionadas com o milho não ocorrem naturalmente no Brasil. Este fato está registrado na documentação apresentada. A possibilidade do gene Bt da planta transgênica passar para alguns microrganismos do solo é discutida por Siqueira J. O. et al (2004) e NIELSEN et al 1998. A conclusão é que a probabilidade é muito remota. Seria muito mais plausível esse gene, que já existe em microrganismos do solo, passar para outro microrganismo. O fluxo gênico vertical certamente irá ocorrer. Em princípio esse fluxo gênico é sem conseqüência porque a maioria dos agricultores não reutiliza os grãos colhidos como semente. As sementes híbridas da geração F1 são adquiridas todos os anos. Há, contudo um pequeno contingente de agricultores de subsistência, que mantêm variedades crioulas. Nodari e Guerra 2001 argumentam que a diversidade de espécies agrícolas, compostas de cultivares crioulas de milho podem estar sendo ameaçadas pelos transgênicos. Muito embora, o argumento possa ser correto, é possível manter essas cultivares. Aliás, o milho híbrido no Brasil é usado intensivamente por várias décadas, nas mesmas regiões em que se concentram a maioria das cultivares crioulas, e essas têm sido mantidas. Mesmo nas variedades crioulas, se ocorrer o fluxo do gene Bt, não é esperado nenhuma diferença do fluxo gênico de qualquer outro alelo existente nas plantas. Discussão a esse respeito é apresentada por Ramalho e Silva (2004). Em síntese, o gene e/ou alelo só irá permanecer na população, se o fluxo gênico for contínuo, com uma freqüência relativamente alta e se tiver alguma vantagem adaptativa. Em tendo vantagem adaptativa, qual a desvantagem da cultivar crioula manter o referido gene? "

B - Desenvolvimento de insetos resistentes

A ocorrência de insetos resistentes a produtos químicos já é conhecida há longo tempo. Há inúmeros relatos de sua ocorrência. Recentemente, até os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da resistência estão sendo estudados (French et al, 2004). A ocorrência de insetos resistentes a endotoxina produzida pelo gene Bt ainda não foi detectada (Shelton et al 2002). Contudo, em laboratório, insetos resistentes a endotoxina do Bt, aplicada exogenamente, tem sido obtida (Ferre et al 2002). Como certamente tipos resistentes irão ocorrer, a estratégia para solucionar o problema será semelhante ao que ocorre com resistência as raças de patógeno. Isso é, alternância de genes cry, incorporação de mais de um gene cry em uma mesma cultivar (piramidação). Nesse caso, a probabilidade de quebrar a resistência será mais difícil. Uma outra estratégia proposta para reduzir o risco de ocorrência de "estirpes" de insetos resistentes ao Bt é o uso de área de "refúgio". Sem plantas contendo o mesmo gene cry a espaços regulares nas lavouras. Isto deverá reduzir a pressão de seleção. Nesse contexto, sabe-se que a produção de milho no Brasil é muito diversificada. São encontradas lavouras com área inferior a 1,0 ha até superior a 1000 ha. Contudo, grande parte da produção é em áreas com menos de 50,0 ha. (Coelho, Cruz, Pereira Filho, 2003. Assim, é esperado que lavouras transgênicas e não transgênicas irão conviver lado a lado, constituindo importantes áreas de refúgio.

C- Efeitos do gene Bt em insetos não alvos

Foram relacionados trabalhos de consultores especialistas em entomologia contratados pela empresa, que demonstram não ocorrer diferença entre plantas Bt e não Bt com relação a efeito em inimigos naturais das pragas. Neste contexto é importante mencionar a revisão apresentada por CALLAGHAN, et al (2005). Concluem que: "The extensive testing on nontarget plant feeding insects and beneficial species that has accompanied the long-term and wide-scale use of Bt plants has not detected significant adverse effects".

D-Comportamento agrônomico dos híbridos contendo o gene cry lab

O número de avaliações do híbrido apresentado na proposta é pequeno. Entretanto, as normas de recomendação de cultivares no Brasil (NRC) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, exigem a condução de experimentos de Valor de Cultivo e Uso (VCU). Segundo estas normas, os VCU's devem ser conduzidos em pelo menos três locais durante dois anos. Pelo que consta do processo, isso ainda não foi realizado. Contudo, acredito que qualquer novo híbrido a ser recomendado, para ter o seu registro de cultivo deve ser submetido a NRC. Se o híbrido não apresentar boa performance agrônômica, a empresa detentora, é que estará sujeita às leis que regem o mercado de comercialização de sementes no país.

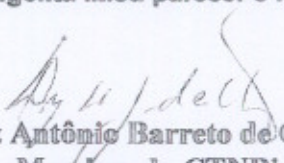
Conclusão

Sob a ótica do manejo da cultura, a liberação comercial de cultivares de milho contendo o gene Bt 11 deverá ser concedida. Isto porque o uso comercial de milho transgênico, que confere resistência à lagarta, entre elas, a *Spodoptera*, poderá ter grande importância para todo o agronegócio que envolva a cultura do milho. Além do mais, os riscos são semelhantes ao de qualquer outra forma de obtenção de cultivares resistentes a patógenos ou pragas.

-Bibliografia

- WALQUIL et al 2002 Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) a lagarta do cartucho - *Spodoptera frugiperda*. Revista Brasileira de Milho e Sorgo 1(3):1-11.
- FERNANDES et al 2003 Efeito do milho geneticamente modificado MON 810 sobre a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda*. Revista Brasileira de Milho e Sorgo 2(2):25-35, 2003.
- SIQUEIRA I. O. et al 2004, Interferências no agrossistema e riscos ambientais de culturas transgênicas tolerantes a herbicidas e protegidas contra insetos. Cadernos de Ciência e Tecnologia., v.21, p.11 - 81, 2004.
- NJELSEN et al 1998 Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria – a rare event? FEMS Microbiological Reviews, 22:79-103. 103.
- NODARI R.O. e GUERRA M. P. 2001 Assessment of environmental risks of genetically modified field plants. Cadernos de Ciência e Tecnologia, Embrapa 8(1):81-116.
- RAMALHO, M. A. P.; SILVA, N. O. 2004, Fluxo Gênico em Plantas. In: MIR, L. Genômica. P. 863-884.
- FRENCH, R. H. et al 2004 - The genetics and genomics of insecticide resistance. Trends in Genetics 20(3): 163-170.
- SHELTON, L. M. et al 2002, Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. Ann Rev. Entomol. 47. 501-533.
- FERRE I. et al 2002 - Biochemistry and genetics of insects resistance to *Bacillus thuringiensis*. Annual Rev. Entomolgy. 47:501-553.
- COELHO, A. M.; CRUZ, I. C.; PEREIRA FILHO, I. A. 2003 - Rendimento do milho no Brasil. Chegamos ao máximo? Informações Agronômicas nº 101 - POTAFOS.
- CALLAGHAN, M. O. et al 2005 Effects of plants genetically modified for insect resistance on non target organisms - Ann. Rev. Entomol. 50:271-92.
- CRUZ, I, et al 1999. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminum saturation. International Journal of Pest Management, London, V.45, p.293-296, 1999

A solicitação apresentada pela Syngenta Seeds extremamente bem estruturada esta fartamente documentada quanto aos aspectos de biosegurança que a nós compete analisar e foi por mim objeto desta análise em detalhe bem como por 3 especialistas cujos pareceres fazem parte deste documento. Não há argumentos em contrario a liberação comercial do milho BT11 que não tem parentes silvestres no Brasil .Na minha opinião pessoal a principal vantagem na adoção desta tecnologia é a redução da incidência de lagartas do colmo e espiga que facilitam o desenvolvimento de fungos e são de difícil controle por meio de inseticidas particularmente para pequenos produtores de milho . Micotoxinas altamente cancerígenas oferecem grave risco para a biosegurança de alimentos e certamente estarão na agenda de países importadores de grãos do Brasil. O Brasil não é um relevante exportador de milho no cenário internacional e vez por outra e obrigado a importar milho argentino sempre transgenico para satisfazer suas necessidades internas ,em particular da industria avícola do Nordeste. De qualquer forma é essencial uma ação responsável no sentido de reduzir agrotóxicos e toxinas cancerígenas ambas as metas facilitadas por este produto da Syngenta .Meu parecer é favorável a liberação comercial


Luiz Antônio Barreto de Castro
Membro da CTNBio