

## **Avaliação de Biossegurança do Milho Herculex (TC1507) Tolerante ao Glufosinato e Resistente a Insetos da Ordem Lepdoptera.**

**Processo: 7232/2006-07**  
**Edilson Paiva**

### **INTRODUÇÃO**

Vinte e três países plantaram e comercializaram produtos de culturas transgênicas na safra 2007/08, outros 29 países totalizando 52, autorizaram a importação e utilização de grãos e produtos transgênicos derivados dos mesmos para alimentação humana ou animal. O milho, segunda cultura transgênica apresentou em 2007, uma área global cultivada de 35,2 milhões de hectares, correspondente a uma taxa de crescimento de 40% em relação à safra de 2006. Atualmente, já foram liberados para cultivo e comercialização, em pelo menos um país, 45 eventos transgênicos de milho. Pela primeira vez em 2007, eventos transgênicos de milho com duas ou três características "piramidadas" na mesma planta, o que é o caso da presente solicitação, ocuparam uma área de cultivo global maior do que aquela cultivada com eventos transgênicos contendo uma única característica. Estima-se que, no mundo haverá uma tendência crescente na direção de se utilizar eventos transgênicos de milho com mais de uma característica agrônômica.

### **ANALISE DE BIOSSEGURANÇA DO MILHO TRANSGÊNICO TC1507**

O milho Herculex (TC1507) tolerante ao herbicida glufosinato de amônia e resistente a insetos da ordem lepdoptera, foi liberado a primeira vez nos Estados Unidos para plantio e comercialização no ano de 2.001 e, hoje já é cultivado em 12 países. A linhagem de milho TC1507 foi geneticamente modificada para conter dois genes novos. O gene cry1Fa2, que confere resistência a insetos da ordem lepdoptera, e o gene pat que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônia. Ambos os genes, foram introduzidos na linhagem parental via o processo de biobalística. A linhagem de milho receptora da construção gênica contendo os dois genes de interesse e os elementos reguladores foi a linhagem de milho conhecida com Hi-II. A linhagem Hi-II é resultante do cruzamento entre duas linhagens endogâmicas temperadas A188 e B73. Estas linhagens endogâmicas, são públicas e foram desenvolvidas pelas Universidades de Minesota e de Iowa. A linhagem Hi-II foi escolhida por apresentar altas taxas de regeneração em cultura de tecido vegetal, o que facilita a recuperação "In Vitro" dos eventos transgênicos após o processo de transformação.

O gene cry1Fa2 foi isolado de *Bacillus thuringiensis* (Bt) e produz a proteína Cry1F, uma delta-endotoxina, que possui ação inseticida específica contra insetos da ordem lepidoptera (Lagartas). A ação inseticida da proteína Cry1F ocorre após a mesma se ligar em sítios específicos do intestino das lagartas alvo, causando a ruptura das membranas intestinais, levando a lagarta a morte. Como não há, sítios específicos para ligação da proteína Cry1F nas membranas do intestino de mamíferos, humanos e animais não são susceptíveis a ação da proteína Cry1F. O gene cry 1F, tem sido reportado como sendo, um dos genes cry, mais eficientes no controle da lagarta do cartucho do milho, que é a principal praga da cultura do milho nas condições tropicais do Brasil.

O gene pat foi isolado de *Streptomyces viridochromogenes* (Um Actinomiceto) e produz a proteína phosphinothricin-N-acetyltransferase que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônia. O princípio ativo do herbicida glufosinato (phosphinothricin) age inibindo a ação da enzima glutamina sintetase que é envolvida na síntese de glutamina e na desintoxicação de amônia. Assim, a ação do herbicida glufosinato, reduz os níveis de glutamina e aumenta a concentração de uréia nos tecidos vegetais parando a fotossíntese e causando rompimento das membranas celulares, o que leva a planta a morte. A proteína PAT confere então tolerância à ação do herbicida por causar uma acetilação do phosphinothricin, inibindo sua ação.

Uma descrição detalhada dos diversos elementos genéticos e regulatórios contidos no plasmídeo vetor (PHP8999) e no fragmento de 6235 bp do inserto (PHI8999), foi disponibilizados no texto da proposta. Bem como, das técnicas moleculares e sondas de DNA que podem ser utilizadas para fazer a detecção do milho transgênico TC1507.

A caracterização molecular, da planta de milho TC1507, feita via análises de Southern Blot e sequenciamento mostra que planta transgênica possui uma copia quase completa, ou seja 6186 bp do fragmento linear de 6235 bp usado na transformação, no qual se encontram os genes de interesse cry1F; pat e seus elementos regulatórios. Além, dos genes cry1F, pat e suas seqüências regulatórias a planta contém ainda os seguintes fragmentos genéticos não funcionais:

- Dois fragmentos do gene cry1F, ambos situados na extremidade 5` da inserção funcional.
- Três fragmentos do gene pat, sem seqüências regulatórias associadas aos mesmos. Dois destes fragmentos estão localizados na borda 5` e um na extremidade 3`.
- Um fragmento da região do polylinker do promotor ubiZM1 na borda 5`.
- Um fragmento da seqüência do terminador ORF25PolyA, em posição invertida, localizado na borda 3` do fragmento funcional.

O milho TC1507, não contém o gene de seleção nptII, nem qualquer outro elemento genético do plasmídeo vetor PHP8999. Assim o evento TC1507 não apresenta elementos de mobilização, conjugação, recombinação ou integração. Os níveis de expressão do gene cry1F nos diferentes tecidos da planta transgênica foram avaliados utilizando as técnicas imunológicas de ELISA e Western e a sua atividade biológica foi avaliada via bioensaios com insetos alvos. A proteína cry1F foi detectada em todos os tecidos vegetais analisados com exceção do tecido radicular. A degradabilidade da proteína Cry1F, quando purificada e adicionada ao solo, apresentou uma meia vida de 3,13 dias valor semelhante (4 a 7 dias) a aqueles encontrados para outras proteínas Cry.

A expressão do gene pat só ocorreu no tecido foliar. Nenhuma vantagem competitiva, que pudesse tornar o milho transgênico TC 1507 uma planta mais agressiva e capaz invadir outros habitats naturais foi detectada, uma vez que, nenhuma característica reprodutiva ou de desenvolvimento foi modificada com a inserção do gene pat na planta de milho TC1507. O evento TC 1507 foi cultivado e monitorado quando a sua capacidade de proliferação como erva daninha e quanto a sua performance agrônômica em mais oitenta localidades ao redor do mundo, incluindo o Brasil.

As informações científicas existentes e o longo histórico de uso das proteínas Cry, utilizadas nos chamados bioinseticidas orgânicos e, aquelas produzidas em plantas transgênicas de milho, tem mostrado que as proteínas Cry não são tóxicas: para o ser humano, outros vertebrados e nem para insetos não alvo.

Através de estudos de retrocruzamento e de autopolinização foi demonstrado que durante seis gerações os genes pat e cry1F se expressaram de forma estável.

Não há possibilidade de fluxo gênico horizontal no território brasileiro, pois não temos nenhum parente próximo do milho, no Brasil (Teosinte e *Tripsacum* só ocorrem na América Central). O fluxo gênico vertical para variedades locais (chamados milhos crioulos) de polinização aberta é possível, mas apresenta o mesmo risco causado pelos genótipos comerciais disponíveis no mercado (80% do milho convencional plantado no Brasil, é proveniente de sementes comerciais que passaram por um processo de melhoramento genético). A coexistência entre cultivares de milhos convencionais (melhoradas ou crioulas) e cultivares transgênicas de milhos é possível e simples do ponto de vista agrônômico. As comunidades antigas e os agricultores modernos têm sabido conviver, ao longo de mais de 60 anos, sem problemas, com as centenas de diferentes cultivares de milho comercial disponíveis no mercado, mantendo suas identidades genéticas ao longo desse tempo. Embora, a coexistência seja um tema relacionado basicamente com as normas de produção e qualidade de sementes, questões econômicas e de mercado e não de biossegurança, a CTNBio publicou uma Resolução Normativa que trata de normas para as coexistências entre milho comercial geneticamente modificado e cultivares convencionais de milho.

Estudos recentes, feitos pela Food and Agriculture Organization, World Health Organization, The Nuffield Council on Bioethics, Shewry et. al., Brookes & Barfoot, Food Safety and GMOs a Consensus Document elaborado por academias de ciências de vários países, concluíram que as lavouras transgênicas em uso no mundo, em particular aquelas contendo os genes cry (Que conferem resistência a insetos), e os gene pat e epsps (Que conferem resistência aos herbicidas glufosinato de amônia e ao glifosato) são tão seguras à saúde humana e animal e ao meio ambiente quanto suas versões convencionais. Os alimentos provenientes de plantas transgênicas têm sido mais avaliados mais do que qualquer outro tipo de alimento e têm sido consumidos, em milhões de toneladas por humanos e animais, em todo o mundo, por cerca de doze anos. Eles têm sido analisados por todos os métodos científicos ou médicos disponíveis. Até o momento, não foi detectado nenhum problema de saúde que possa ser atribuído as proteínas Cry ou PAT. Com relação ao impacto causado no meio ambiente, as revisões acima citadas demonstraram que, em dez anos de uso as culturas tolerantes a herbicidas e resistente a insetos causaram uma diminuição global no uso de defensivos agrícolas, resultando em benefícios agrônômicos, sociais, nutricionais, econômicos e ambientais.

Com base na evidência científica disponível, na ampla discussão já realizada na CTNBio a respeito dos eventos transgênicos objetos desta proposta, e nos vários anos de

cultivo e comercialização segura das culturas transgênicas tolerantes ao glufosinato de amônio e resistentes a insetos (Sistema Bt), onde se inclui o milho TC1507, considero que o mesmo é tão seguro quanto a sua versão convencional e que pode portanto, ser utilizado para os mesmos fins. Meu parecer é pelo deferimento.

**Observação:** Durante a elaboração desse parecer analisei em detalhes as informações técnicas apresentadas no processo da proponente, e consultei várias das referências citadas no mesmo. Também, considerei informações protocoladas na CTNBio por diferentes organizações e as discussões e dúvidas evidenciadas durante a audiência pública. Gostaria também de lembrar, que a maioria das informações científicas apresentadas na proposta já haviam sido extensamente avaliadas e discutidas ao longo dos últimos anos, nas reuniões da CTNBio que fizeram as análises de biossegurança dos 5 eventos de milho já liberados para comercialização no Brasil.

#### **Referências Consultadas.**

Agbios. GM Database. Biotech Crop Database. Maize MON NK603. 2008.

<http://www.agbios.com>

Brookes, G. et al. 2004. GM Maize – Pollen Movement and Crop Co-existence. Dorchester, UK: PG Economics Ltd. <http://www.pgeconomics.co.uk>

Brookes, G; & Barfoot, P. Global Impact of Biotech Crops: Socio-Economic and Environmental Effects in the First Ten Years of Commercial Use. 2006. AgBioForum. 9: 139-151.

European Commission. 2006. Technical Report EUR 22102 EM. New Case Studies on the Coexistence of GM and Non-GM Crops in European Agriculture.

<http://www.jrc.es/home/pages/eur22102enfinal.pdf>

Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of Food and Agriculture. Agriculture Biotechnology. Meeting the Needs of the Poor. Rome 2004. 208pp.

<http://www.fao.org>

Food Safety and GMOs. Consensus Document. 2004. 10pp. <http://www.cedab.it>

James, Clive. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. ISAAA Brief n° 36, 2007. ISAAA: Ithaca, NY. Website: <http://www.isaaa.org>

Messeguer, J. et al. 2006. Pollen-Mediated Gene Flow in Maize in Real Situations of Coexistence. *Plant Biotechnology Journal*. 4:633-645.

Official Journal of the European Union. <http://www.agbios.com/docroot/decdocs/06-286-015.pdf>

Pray, C. E. & Huang, J. 2003. The Impact of Bt Cotton in China. In N. Kalaitzandonakes, ed. *The Economic and Environmental Impacts of Agbiotech: A Global Perspective*. New York, USA, Kluwer-Plenum Academic Publisher.

Sears, M. K. et al. 2001. Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. *Proc. Natl. Acad. Sci.* PDF Size: 166577 bytes.

Shewry, P. R.; et al. 2007. Are GM and Conventionally Bred Cereals Really Different. 2007. *Food Science & Technology*. 18: 201-209.

The Use of genetically Modified Crops in Developing Countries. Nuffield Council on Bioethics. 2004. 122pp. <http://www.nuffieldbioethics.org>

Trewavas A. 2008. The cult of the amateur in agriculture threatens food security. *Trends in Biotechnology*. 26:475-478.

World Health Organization (WHO). *Modern Food Biotechnology, Human Health and Development: An Evidence-Based Study*. 2005. 76pp. <http://www.who.int/foodsafety>

Sete Lagoas, 15 de Agosto de 2008.



Edilson Paiva.

Membro da CTNBio.

