

Parecer sobre Liberação Comercial de Milho Geneticamente Modificado.

Processo: 01200.7493/2007-08

Empresa Proponente: SYNGENTA SEEDS LTDA

Característica Introduzida: Resistência à insetos [gene Vip3A]

Nome do Evento: MIR 162

Nome Comercial do Evento: Milho MIR 162

Introdução

O milho constitui-se em um dos principais produtos agrícolas brasileiro sendo plantado em uma área que varia entre 12 e 13 milhões de hectares distribuídos em dois períodos de produção anual em todas as regiões do Brasil. A produção anual é de cerca de 40 milhões de toneladas, o que equivale a produtividade média de pouco mais de 3 toneladas por hectare de grãos. Esta produtividade está muito abaixo do potencial da cultura, tanto comparada com as melhores regiões produtoras no país como em relação aos principais países produtores no mundo. Os danos causados por pragas no Brasil são estimados, por pesquisadores da Embrapa, em cerca de 19% da produção sendo 12 espécies, ou complexos de espécies, de insetos fitófagos descritos como as mais importantes da parte aérea durante todo o ciclo da cultura. O controle de insetos pragas no Brasil é dirigido primariamente para as lagartas de lepidópteros, sendo que em média são feitas duas aplicações aéreas além do tratamento de sementes. Considerando a grande área cultivada, fica evidente a importância nos aspectos econômicos, ambientais e de saúde do trabalhador de tecnologias que possam reduzir o uso de inseticidas químicos.

A empresa SYNGENTA SEEDS LTDA solicita a liberação comercial do evento MIR 162 de Milho Geneticamente Modificado (MGM) com característica de resistência, à vários insetos (lepidópteros-praga). O evento contém o gene vip3Aa20 que codifica a proteína VIP3Aa20 e o gene manA que codifica a enzima fosfomanose isomerase (PMI). A proteína VIP3Aa20 é uma proteína variante da proteína inseticida nativa VIP3Aa1 da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* cepa AB88 que possui característica inseticida contra a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*), a lagarta da espiga (*Helicoverpa zea*) e a broca do colmo do milho (*Diatraea saccharalis*). A enzima PMI, codificada

pelo gene *manA* obtido de *Escherichia coli* cepa K-12, foi utilizado como marcador de seleção ao longo do processo de desenvolvimento do milho MIR 162.

A avaliação de eficiência agrônômica demonstrou que o milho MIR 162 comparado ao respectivo híbrido isogênico convencional (não GM) não apresentou diferenças estatísticas significativas em relação aos parâmetros fenotípicos e produção tanto qualitativa como quantitativa em estudos realizados na Argentina (tabela 9, pág. 34 e anexo 3) e no Brasil (tabela 11 pág. 35 e anexo 4), além de níveis de resistência a doenças e características morfológicas comparadas no Brasil (tabela 10 pág. 35 anexo 4). A eficiência do milho MIR 162 contra lepidópteros-praga que são alvos da tecnologia é apresentada nas tabelas 12, 13 e 14 páginas 38, 39 e 40 e anexo 5 que sumarizam testes realizados no Brasil em diferentes condições de intensidade de infestação das pragas (lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*; a lagarta da espiga, *Helicoverpa zea*; e a broca do colmo do milho, *Diatraea saccharalis*) e em diferentes estágios da cultura. Dessa forma, fica demonstrada no processo a contribuição positiva que a liberação comercial desse evento pode oferecer à agricultura nacional.

O presente parecer estará enfocando os aspectos relacionados a segurança ambiental da liberação comercial do milho MIR 162, considerando a legislação vigente e a área de especialização desse parecerista.

A Resolução Normativa número 05 da CTNBio em seu CAPITULO III, Art. 19 especifica que “a avaliação de risco, conforme definida no art. 4º, inciso I, desta Resolução Normativa, deverá identificar e avaliar os efeitos adversos potenciais do OGM e seus derivados na saúde humana e animal, no ambiente e nos vegetais, mantendo a transparência, o método científico e o princípio da precaução”. Além disso, o Protocolo de Cartagena para Biossegurança (<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/1177.html>), da qual o Brasil é signatário prevê em seu anexo III que a avaliação de risco deverá realizar-se de maneira transparente e cientificamente sólida, sendo caso a caso e considerando o organismo vivo modificado, seu uso previsto, além do provável meio receptor. A metodologia da avaliação de risco é brevemente descrita nesse mesmo anexo. O processo que solicita a liberação comercial do milho MIR 162 não atende a essa determinação pelas razões abaixo expostas:

Não há uma formulação formal do problema identificando o agente iniciador ou “estressor” do ambiente e os possíveis efeitos adversos decorrentes do agente iniciador. As possíveis rotas de exposição e os possíveis efeitos ao meio ambiente não são caracterizados. Não há formulação de hipóteses de risco potencial e análise prévia de suas chances de ocorrência. A caracterização das rotas de exposição através da qual uma quantidade do agente iniciador entra em contato com diferentes componentes do ambiente receptor e a caracterização do efeito dessa exposição causando um efeito adverso de severidade específica devido ao nível de exposição deverão ser a base para a estimativa e avaliação do risco de cada hipótese de risco formulada e escolha dos organismos ou funções ecológicas a serem testadas.

Não há uma análise das conseqüências desses efeitos. Não há indicação do processo de seleção, ou descarte, de organismos e funções ecológicas para testes baseados na avaliação de risco. A análise de risco confere transparência ao processo ao mostrar aos avaliadores o método científico e o princípio de precaução adotado pela empresa na estratégia de avaliação de risco, conforme exigido na Resolução Normativa 5.

Este procedimento também está indicado no item 8 do Anexo 4 da Resolução Normativa 05 (“8. os impactos, arrolando as espécies avaliadas, as razões da escolha e as técnicas utilizadas para demonstrar os impactos;”), mas não consta do presente processo. Detalhes adicionais sobre os procedimentos acima descritos podem ainda ser obtido em USEPA 1998.

A falta da avaliação formal de risco prejudica toda a análise em relação aos seguintes itens solicitados no ANEXO IV - AVALIAÇÃO DE RISCO AO MEIO AMBIENTE, (A) PLANTAS

3. os possíveis efeitos em organismos indicadores relevantes (simbiontes, predadores, polinizadores, parasitas ou competidores do OGM) nos ecossistemas onde se pretende efetuar o seu cultivo, em comparação com o organismo parental do OGM em um sistema de produção convencional;

Estudo de campo em duas áreas geograficamente próximas (Uberlândia e Ituiutaba, MG) e representativas apenas de parte do ecossistema Cerrado onde o milho é cultivado no Brasil. O estudo se restringiu a avaliar o impacto sobre a comunidade de insetos em geral e ao predador *Doru luteipes* e outros artrópodes de solo. Embora o estudo indique

ausência de impacto para estes grupos ou espécies, diferenças nas abundâncias de espécies e estruturação das comunidades entre locais mostram que outros fatores podem estar influenciando os resultados e devem ser melhor estudados. Não há uma justificativa sobre a razão da escolha dos impactos (efeitos adversos) a serem avaliados, os organismos escolhidos para indicação desses impactos e da metodologia de avaliação. Dessa forma, pragas não-alvo, taxas de controle biológico, polinizadores e visitantes florais ou funções ecológicas de organismos do solo como simbioses não tiveram metodologias específicas de monitoramento e não foram avaliadas.

4. a capacidade de dispersão das estruturas de propagação e reprodução do OGM além das áreas de cultivo e os mecanismos de sua dispersão no ar, na água e no solo, fornecendo informações sobre a viabilidade do pólen da planta e indicando os agentes polinizadores potenciais e sua distribuição geográfica no Brasil;

6. a frequência com que ocorre o cruzamento do organismo parental do OGM, dentro da mesma espécie e com espécies sexualmente compatíveis, arrolando as espécies avaliadas, as técnicas utilizadas e os efeitos resultantes;

Não há informação ou estudos no processo informando a dispersão do pólen para além das áreas de cultivo e sua viabilidade e capacidade de cruzamento. Embora não haja espécies do gênero *Zea* no Brasil e seja baixa a probabilidade de transferência do gene vip3Aa20 para espécies silvestres (pág. 76 e 77 do processo) além da baixa possibilidade do milho GM tornar-se planta invasora, devido ao seu alto grau de domesticação; os cultivos e produção de milhos especiais como pipoca e doce, além de plantios tradicionais com raças locais ou crioulas e plantios certificados como orgânicos devem ser respeitados e a introgressão do transgene e contaminação ou ocorrência de sementes adventícias devem ser prevenidas. Estudos com o material a ser liberado nos prováveis ambientes receptores para prover informações previstas nos itens 4 e 6 acima devem ser realizados para subsidiar a avaliação de biossegurança.

7. os efeitos resultantes da transferência horizontal para a microbiota do solo, caso ocorra;

A empresa solicitante considera negligente a possibilidade de transferência horizontal para microrganismos do solo (pág 79 do processo) baseado em estudos realizados no exterior. O processo demonstra ainda que a cinética de degradação da proteína em solos coletados em diferentes regiões do Brasil apresentou variação na faixa de 6 a 12,6 dias (pág. 77 do processo e anexo 19) sugerindo baixo impacto potencial sobre organismos não-alvo do solo quando somado aos bioensaios com espécies de solo como colêmbola e minhoca. No entanto, novamente não há uma análise de risco estabelecendo hipóteses de risco apontando possíveis efeitos adversos a funções ecológicas exercidas por organismos de solo e sua seleção ou descarte da necessidade de estudo de espécies indicadoras.

8. os impactos negativos e positivos aos organismos alvo e não-alvo que poderão ocorrer com a liberação do OGM, arrolando as espécies avaliadas, as razões da escolha e as técnicas utilizadas para demonstrar os impactos;

Nos estudos do efeito da proteína Vip3A sobre organismos não-alvo foram utilizadas variantes da proteína Vip3Aa20 expressa pelo milho MIR 162. Essas variantes provenientes de diferentes origens (Tabela 17 pág. 60) foram usadas para produzir substâncias-testes adequadas às diferentes espécies não-alvo testadas, sendo as metodologias de aferição da característica funcional e detecção da exposição consideradas adequadas por esse parecerista. Um grupo de dez espécies foi usado para avaliar o efeito da proteína VIP3. No entanto, as razões da escolha desses organismos não estão claramente estabelecidas no contexto da avaliação de risco ambiental. Não é relatado se os testes foram realizados no Brasil com populações locais das espécies avaliadas ou sua origem. Estudos recentes sobre a toxicidade de proteínas Cry provenientes de *Bacillus thuringiensis* mostraram que a variabilidade genética entre populações da mesma espécie de lepidóptero, geograficamente isoladas, causa diferença de susceptibilidade a uma dada proteína (Monerat et al. 2006). Os testes em geral se restringiram a ensaios ecotoxicológicos, avaliando o impacto da toxina Vip3a sobre a sobrevivência e não consideraram outros efeitos deletérios sobre outros parâmetros da população como longevidade e fecundidade. Além disso, em estudos de sobrevivência para algumas das espécies, foram utilizadas apenas três repetições (*Daphnia magna*,

Coleomegilla maculata, *Chrysoperla carnea*, *Ictalurus punctatus*) ou quatro repetições (*Eisenia foetida* e *Folsonia cândida*) com número variável de indivíduos resultando em baixo número de graus de liberdade e baixo poder dos testes em reconhecer diferenças e aumento da chance de produzir erros do tipo II, que são críticos em análises de impacto biológico (ver detalhes em Marvier 2002, Andow 2003, Lövei & Arpaia 2005). Os resultados completos com a variação dos dados em torno das médias, eventual tratamento dos dados e resultados das análises estatísticas demonstrando a metodologia utilizada não são apresentados inviabilizando a avaliação dos estudos realizados. Os estudos com as espécies de insetos predadores, *Orius insidiosus* e *Coccinella septempunctata* não apresentam o desenho experimental utilizado e os resultados detalhados, assim como as análises estatísticas contrariando a exigência do art. 20 da Resolução Normativa 05 de informações devidamente documentadas com relatórios científicos sem prejuízo de outras informações solicitadas pela CTNBio.

Os estudos com *Apis mellifera* são apresentados em detalhes no anexo 17 do processo e mostram a inocuidade da proteína VIP3A em diferentes estágios de desenvolvimento do inseto. Os estudos foram realizados na Europa com populações de abelhas que diferem daquelas que ocorrem no Brasil. Outras espécies de polinizadores e visitantes florais que ocorrem em campos de milho no Brasil não foram consideradas nas avaliações de risco no presente processo.

Os testes com os insetos predadores *Coleomegilla maculata*, *Coccinella septempunctata* *Orius insidiosus* são justificados pela sua ocorrência na cultura do milho e por se alimentarem de pólen ou sua ação como predadores, porém não há referências ou indicações no processo de sua relevância como predadores de herbívoros na cultura do milho ou sua elevada abundância de forma a justificar sua escolha como espécies indicadoras no Brasil. Além disso, outros aspectos biológicos como o efeito sobre a sobrevivência na fase imatura, além da longevidade e fecundidade não foram avaliadas de forma a assegurar a ausência de impacto da toxina sobre estas espécies. Outras espécies relevantes como predadores de importância para o controle biológico de pragas na cultura do milho no Brasil, como *Doru luteipes* (Cruz & Oliveira 1997), ou polinizadores e visitantes florais do milho não foram avaliados em relação a exposição a toxina VIP 3A e deverão ser consideradas na análise de risco que deverá ser incluída no processo.

10. as possíveis modificações da biodegradabilidade da planta GM, comparativamente ao genótipo parental.

Não é apresentado no parecer.

A empresa solicitante não apresenta o histórico de uso de Milho expressando a proteína VIP3Aa20 e os países onde já foram autorizadas ou recusadas a sua comercialização e plantio apresentando, neste caso, dados de monitoramento ou de estudos pós-liberação comercial, solicitado no item 12 da Resolução Normativa 05. Assim, entendo que não há experiência prévia da liberação em larga escala dessa toxina.

O PLANO DE MONITORAMENTO PÓS-LIBERAÇÃO COMERCIAL apresentado não atende ao item 5 do Anexo 1 da Resolução Normativa 05 que exige a utilização de metodologia científica reconhecida internacionalmente e uso de desenhos experimentais adequados às inferências a serem feitas. Novamente não há hipóteses de risco claramente formuladas considerando efeitos adversos possíveis que devam ser testadas experimentalmente. A metodologia proposta é vaga, em função da falta de hipóteses experimentais, e não há desenho experimental definido com plano de avaliação da representatividade do estudo proposto.

Conclusão da Análise e recomendações

O processo precisa ser reformulado de forma a incluir as informações solicitadas nesse parecer para atender aos requisitos legais previstos na Resolução Normativa 05. A avaliação sobre a segurança ambiental da liberação comercial do milho evento MIR 162 somente poderá ser completada de posse desses dados.

Edison Ryoiti Sujii

15 de Agosto, 2008

Referências:

Andow D.A. 2003. Negative and positive data, statistical power, and confidence Intervals. *Environ. Biosafety Res.* 2:75–80.

Cruz I, Oliveira AC. 1997. Flutuação populacional do predador *Doru luteipes* Scudder em plantas de milho. *Pesq. Agropec. Bras.* 32: 363-368.

Lövei, G.L., Arpaia,S. 2005.The impact of transgenic plants on natural enemies: a critical review of laboratory studies. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 114: 1–14.

Marvier, M. 2002. Improving risk assessment for nontarget safety of transgenic crops. *Ecological Applications*, 12(4), 2002, pp. 1119–1124.

US EPA (United States Environmental Protection Agency) (1998) Guidelines for Ecological Risk Assessment. U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, Washington, DC, EPA/630/R095/002F, 1998.

Monnerat, R., Martins, E., Queiroz, P. Ordu'z, S., Jaramillo, G. Benintende, G. Cozzi, J., Dolores Real, M., Martinez-Ramirez, A. Rausell,C., Cero'n, J., Ibarra, J.E., Del Rincon-Castro, M.C., Espinoza, A.M., Meza-Basso, L., Cabrera, L., Sanchez, J., Soberon, M. & Bravo, A. 2006. Genetic Variability of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) Populations from Latin America Is Associated with Variations in Susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry Toxins. *Applied and Environmental Microbiology*, 72: 7029–7035