

**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 59122x1507xNK603  
(Programa para quatro anos)**

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



## ÍNDICE

SUMÁRIO .....	3
INTRODUÇÃO.....	5

### DOSSIER TÉCNICO

A. INFORMAÇÃO GERAL.....	5
B. INFORMAÇÃO RELATIVA AO (A) ORGANISMO RECEPTOR OU (B) (QUANDO APROPRIADO) ÀS LINHAS PARENTAIS.....	6
C. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A MODIFICAÇÃO GENÉTICA .	10
D. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A PLANTA GENETICAMENTE MODIFICADA.....	10
E. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O LOCAL DE ENSAIO .....	11
F. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O ENSAIO.....	12
G. INFORMAÇÃO SOBRE O CONTROLO, MONITORIZAÇÃO PÓS- COLHEITA E PLANOS DE TRATAMENTO DOS RESÍDUOS.....	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16

#### ANEXOS:

ANEXO 1 Análise molecular das inserções [CONFIDENCIAL]Erreur ! Signet non défini.

ANEXO 2 Protocolos para os ensaios de 2006 [CONFIDENCIAL] .Erreur ! Signet non défini.

ANEXO 3 Identificação dos responsáveis [CONFIDENCIAL]..Erreur ! Signet non défini.

### AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL

AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL PARA A LIBERTAÇÃO DELIBERADA DO MILHO 59122x1507xNK603.....	19
---	----

### INFORMAÇÃO ADICIONAL RELACIONADA COM O MILHO 59122

INTRODUÇÃO.....	27
-----------------	----

**INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A PLANTA GENETICAMENTE MODIFICADA.....** Erreur ! Signet non défini.

**SUMÁRIO**

**Notificador:** Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal

**Título:** Programa de ensaios de campo para testar variedades de milho geneticamente modificadas 59122x1507xNK603.

**Motivo da transformação:**

O milho 59122x1507xNK603 foi obtido por métodos tradicionais de melhoramento nas descendências de três milhos geneticamente modificados (GM). Os três milhos GM são o milho DAS-59122-7, referido como milho 59122, da Mycogen/Dow AgroSciences e Pioneer, o milho DAS-Ø15Ø7-1, referido como milho 1507, da Mycogen/Dow AgroSciences e Pioneer, e o milho MON-ØØ6Ø3-6, referido como milho NK603, da Monsanto. Não foi introduzida nenhuma nova modificação genética no milho 59122x1507xNK603. O milho 59122x1507xNK603 é resistente a certas pragas de insectos coleópteros e lepidópteros e é tolerante aos herbicidas glufosinato de amónio e glifosato.

O identificador único da OCDE associado ao milho 59122x1507xNK603 é DAS-59122-7xDAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø3-6.

**Espécie receptora:**

*Zea mays* L.

**Gene(s) de interesse introduzidos e seqüências de controle:**

- gene *cry34Ab1*, promotor UBIZM1(2), terminador PINII.
- gene *cry34Ab1*, promotor Peroxidase, terminador PINII.
- gene *pat*, promotor CaMV35S, gene terminador CaMV35S
- gene *cry1F* (versão truncada), promotor UBIZM1(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 libertação 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 outras parcelas cultivadas com milho não experimental, como requerido pelas autoridades portuguesas. Adicionalmente, todo o local de ensaio será rodeado por 4 linhas de bordadura de uma variedade de milho comercial de maturação similar, as quais serão igualmente destruídas no fim da

libertação. Toda a matéria vegetal remanescente no campo que não tenha sido colhida para análises será destruída por corte e incorporação no solo.

**Resumo de antecedentes (factos relevantes):**

A Pioneer começou a testar o híbrido 59122x1507xNK603 em 2003. Estas variedades de milho geneticamente modificadas têm estado a ser sujeitas a ensaios de campo efectuados nas principais regiões produtoras de milho dos USA, Canadá e Chile desde 2003. Foram igualmente efectuados ensaios de campo na Europa desde 2004.

O processo para autorização do milho 59122x1507xNK603 para todos os usos alimentares e para alimentação animal e para importação e processamento do milho 59122x1507xNK603 na Europa foi submetido em Agosto de 2005 à EFSA (EFSA GMO//UK/2005-21).

**Objectivo do ensaio:**

O objectivo do ensaio é avaliar os efeitos do herbicida glifosato no milho 59122X1507XNK603. Para concretizar este objectivo, além de se proceder a observações serão colhidas amostras de tecido vegetal de milho.

**Número e dimensão dos ensaios:**

Por ano serão instalados até três ensaios em locais diferentes. A disseminação do milho geneticamente modificado 59122x1507xNK603 ocupará uma área de 500m<sup>2</sup> em cada local de libertação. Esta disseminação será incluída num ensaio de campo que irá conter igualmente variedades não geneticamente modificadas e outro milho geneticamente modificado descrito noutros processos de notificação.

Em 2006 a área total dos ensaios (todas as variedades e bordaduras incluídas) poderá atingir os 5.000 m<sup>2</sup> por local de ensaio.

## INTRODUÇÃO

Esta notificação diz respeito à libertação deliberada no ambiente do milho geneticamente modificado 59122x1507xNK603 que é resistente a certos insectos coleópteros, como *Diabrotica virgifera virgifera* e *Diabrotica barberi*, e a certos insectos lepidópteros, como as brocas (*Ostrinia nubilalis*) e é tolerante ao herbicida glifosato (a tolerância ao herbicida glufosinato de amónio foi introduzida como um marcador seleccionável).

Os insectos coleópteros, como a *Diabrotica virgifera virgifera* e *Diabrotica barberi*, e os insectos lepidópteros, como as brocas (*Ostrinia nubilalis*) são importantes pragas do milho. Alimentando-se das raízes do milho, e abrindo galerias no interior dos caules e das maçarocas, as larvas de diabrotica e das brocas, respectivamente, provocam danos importantes nas plantas que resultam em perdas de produção da cultura. Os meios de combate correntemente disponíveis contra estas larvas de insecto incluem o uso de insecticidas químicos bem como a rotação de culturas no caso da *Diabrotica* spp. Estes meios somente permitem limitar as populações de *Ostrinia* e *Diabrotica*, reduzindo desse modo os danos na cultura do milho, mas não eliminam os danos provocados pelas pragas. A existência de pequenas áreas de monocultura de milho é suficiente para manter grandes populações de *Diabrotica* e assim, permitir a sua reprodução e o aumento das zonas infestadas. A melhor forma de combater estas pragas no milho é através do uso de milhos geneticamente modificados resistentes às referidas pragas.

O híbrido geneticamente modificado 59122x1507xNK603 foi obtido por técnicas tradicionais de melhoramento, entre as descendências dos milhos geneticamente modificados 59122, 1507 e NK603 e contém os genes *cry34Ab1*, *cry35Ab1* e *pat* como o milho 59122, os genes *cry1F* e *pat* como o milho 1507 e o gene *cp4epsps* como o milho NK603.

Os genes *cry34Ab1* e *cry35Ab1*, isolados do *Bacillus thuringiensis* estirpe 149B1 codificam proteínas com propriedades insecticidas que quando combinados, actuam especificamente em espécies alvo de larvas de diabrotica que se alimentam de raiz do milho. O gene *cry1F*, isolado do *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*, codifica uma delta endotoxina que tem sido demonstrado ser especificamente efectiva no controlo de certos insectos lepidópteros no seu estado larvar. O gene *pat*, isolado do *Streptomyces viridochromogenes*, que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amónio foi introduzido como marcador selectivo para o processo de selecção. O gene *cp4 epsps* da *Agrobacterium* sp. confere tolerância ao herbicida glifosato.

Assim, o milho 59122x1507xNK603 pode combater certos insectos coleópteros e lepidópteros como sejam a *Diabrotica virgifera virgifera*, *Diabrotica barberi*, e *Ostrinia nubilalis*, e tolera a aplicação do herbicida não selectivo glifosato para controlo das infestantes da cultura do milho.

O objectivo desta libertação é avaliar o comportamento do milho 59122x1507xNK603 face a aplicações do herbicida glifosato.

### A. INFORMAÇÃO GERAL

**1. Nome e morada do notificador:**

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

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

Cada ensaio será supervisionado por um Engenheiro Agrónomo  
Ver informação confidencial no Anexo 3.

**3. Título do Projecto**

Pedido de autorização para realizar ensaios de campo com o milho geneticamente modificado 59122x1507xNK603.

**B. INFORMAÇÃO RELATIVA AO (A) ORGANISMO RECEPTOR OU (B) (QUANDO APPROPRIADO) ÀS LINHAS PARENTAIS**

**1. Descrição:**

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

## 2. Reprodução / compatibilidade sexual

### a) Informação referente à reprodução

#### i. Modo(s) de reprodução

O milho é uma espécie anemófila e monóica, com duas inflorescências separadas.

- As flores masculinas estão agrupadas em panículas no topo do colmo e são compostas apenas por estames rodeados por glumelas. São as primeiras flores a aparecer (protrândricas).
- As flores femininas agrupam-se em uma ou mais espigas na axila das folhas e são reconhecidas pelos seus longos estiletos, chamados sedas, que emergem das brácteas (folhas modificadas) que rodeiam as espigas. Cada flor contém um único ovário.

A polinização do milho em condições naturais é sobretudo cruzada (superando os 95%). A auto-fecundação, todavia, também pode ocorrer, ainda que com baixa frequência (inferior a 5%). O milho é uma espécie tipicamente alogâmica.

#### ii. Factores específicos que afectam a reprodução (se existir)

As florações masculinas e femininas e a polinização são os estádios mais críticos do desenvolvimento do milho e o rendimento em grão é muito afectado pelos *stresses* hídricos e de fertilidade. Em geral a viabilidade do pólen de milho é breve. Sob condições de temperatura elevada (Herrero e Johnson, 1980) e de secura (Hoekstra *et al.*, 1989), a viabilidade do pólen de milho mede-se por minutos; estas condições podem mesmo danificar a panícula antes da deiscência de qualquer pólen (Lonnquist e Jugenheimer, 1943). Condições mais moderadas podem alongar a várias horas a vida do pólen no campo (Jones and Newell, 1948).

#### iii. Tempo de geração

O milho é uma cultura anual com um ciclo cultural variável, entre um mínimo de 10 semanas e um máximo de 48 semanas desde a emergência da plântula à maturação (Shaw, 1988). Esta gama de maturações permite que o milho seja cultivado em diferentes condições climáticas.

Nas condições Europeias, a sementeira ocorre geralmente de 15 de Abril até 15 de Maio e a colheita pode ser efectuada 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.

Na Europa não é possível qualquer hibridação inter-específica dada a ausência de espécies aparentadas ou fortemente aparentadas que se desenvolvam no território europeu.

### **3. Sobrevivência**

#### **a) Capacidade de formar estruturas para sobrevivência ou dormência**

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

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

Em geral, não se verifica o aparecimento de plantas de milho espontâneas após a colheita do 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 das plantas geneticamente modificadas puder ser transportado pelo vento para estigmas receptivos durante o período de viabilidade de 30 minutos, a polinização pode ocorrer. À medida que a distância para as plantas geneticamente modificadas aumenta, a possibilidade de ocorrer fecundação cruzada passa a ser cada vez mais reduzida. Torna-se negligenciável quando a distância atinge os 200 metros, que é a distância reconhecida e aplicada para a produção de semente certificada 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, Helmintosorrose, Fusário, Morrão, Crazy top) e a pragas de insectos (*Atomaria lineari*, *Blaniulus guttulatus*, *Scutigerella immaculata*, *Tipula paludosa*, *Agrotis ipsilon*, *Agrotis ipsilon*, *Sesamia nonagrioides*, *Ostrinia nubilalis*, *Diabrotica virgifera virgifera*, *Diabrotica barberi*, *Rhopalosiphum maidis*), assim como, à competição com plantas infestantes.

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

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

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

**C. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A MODIFICAÇÃO GENÉTICA**

**Esta secção é considerada matéria Confidencial**

**D. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM A PLANTA GENETICAMENTE MODIFICADA**

**Esta secção é considerada matéria Confidencial**

## **E. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O LOCAL DE ENSAIO**

### **1. Localização e dimensão do(s) local(ais) de libertação**

Em 2006, os locais de libertação 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 59122x1507xNK603 não envolverá mais que 500 m<sup>2</sup> em cada local de libertação. Esta disseminação será incluída num ensaio de campo que irá igualmente conter milho não geneticamente modificado e outro milho geneticamente modificado descrito noutros processos de notificação.

Em 2006, a área total da libertação (todas as variedades e bordaduras incluídas) poderá atingir os 5.000 m<sup>2</sup> por local.

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

Os locais de ensaio são localizados em zonas tradicionais de cultivo de milho. A fauna e a flora não têm características especiais e os campos não estão localizados em zonas protegidas ou próximas destas.

### **3. Presença de espécies selvagens ou de espécies cultivadas sexualmente compatíveis**

Não existem na Europa espécies aparentadas sexualmente compatíveis.

### **4. Proximidade para biótipos ou zonas protegidas oficialmente reconhecidas que possam ser afectadas**

Não existem biótipos ou zonas protegidas oficialmente reconhecidas junto das zonas agrícolas em que se situam os locais de ensaio escolhidos.

## **F. INFORMAÇÃO RELACIONADA COM O ENSAIO**

### **1. Objectivo da libertação**

O objectivo da libertação é avaliar o efeito do herbicida glifosato no milho 59122x1507xNK603.

Em 2006 estão planeados dois tipos de ensaios:

- Ensaios para análise do efeito residual do herbicida

Estes ensaios estão planeados no sentido de serem colhidas amostras de forragem e de grão do milho 59122x1507xNK603, para avaliação do efeito residual do herbicida glifosato no milho 59122x1507xNK603. As amostras serão analisadas noutro país.

- Ensaios de avaliação da selectividade do herbicida glifosato

Estes ensaios estão planeados no sentido de ser colhida forragem e/ou grão para determinação da produção, assim como para avaliar a selectividade do herbicida glifosato por observação visual no milho 59122x1507xNK603, por comparação com testemunhas.

### **2. Data(s) prevista(s) e duração da libertação**

A libertação do milho 59122X1507XNK603 está planeada para 4 campanhas de cultivo do milho:

Quadro 6: Datas previstas e duração da libertação

<b>CAMPANHA</b>	<b>DURAÇÃO DA LIBERTAÇÃO</b>
2006	Início de Abril até fim de Dezembro
2007	Início de Abril até fim de Dezembro
2008	Início de Abril até fim de Dezembro
2009	Início de Abril até fim de Dezembro

### **3. Método de libertação das plantas geneticamente modificadas**

As sementes serão semeadas, uma a uma, em linhas espaçadas de 70 a 80 cm. O comprimento de cada linha será adaptado de acordo com o tipo de ensaio. O espaçamento na linha, entre sementes, será aproximadamente de 25 cm. Em cada extremo das linhas serão deixadas ruas para facilitar o acesso às plantas.

Os protocolos de ensaio são apresentados no Anexo 2.

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

Os locais serão preparados e geridos de acordo com as condições habituais necessárias para a correcta realização de ensaios.

Para as necessidades do estudo, serão colhidas algumas amostras. No final da libertação, toda a matéria vegetal remanescente que não for colhida para análises será destruída por corte e incorporação no solo.

#### **5. Número de plantas aproximado (ou plantas por m<sup>2</sup>)**

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

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

## **1. Precauções a tomar:**

### **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)**

Como requerido pelas autoridades portuguesas será mantida uma distância de 400 m entre o milho transgénico a testar e qualquer outra cultura de milho não experimental. Adicionalmente o local de ensaio será rodeado por 4 linhas de bordadura de milho convencional de maturação similar e que serão igualmente destruídas no final da libertação.

A dispersão de sementes individuais não ocorre. Elas estão fixas no carolo e protegidas 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 de tratamento pós-libertação do local**

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 de pós-libertação do material das plantas geneticamente modificadas incluindo resíduos**

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

Depois do ensaio a parcela será visitada regularmente durante o ano seguinte, para controlar possíveis plantas de milho que eventualmente tenham germinado. 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 regularmente visitados por necessidades agronómicas e de experimentação. Estas visitas permitirão também que sejam monitorizados o desenvolvimento da planta e a não dispersão de material.

## **5. Descrição dos planos de emergência**

Uma monitorização regular dos ensaios permitirá uma identificação imediata de qualquer evento ou desenvolvimento indesejado, provocados por fenómenos externos como, por exemplo, condições climáticas desfavoráveis.

Em caso de emergência, a pessoa de contacto (ver Anexo 3) será directamente informada e activará o plano de emergência. Esta pessoa informará igualmente, de imediato, o Instituto do Ambiente.

Em caso de emergência, o ensaio pode ser destrutivamente interrompido por aplicação de um herbicida não selectivo, que não o glufosinato ou o glifosato ou por destruição mecânica e incorporação no solo.

## **6. Protecção do local da libertação**

Os locais de ensaio serão rodeados por 4 linhas de bordadura de milho convencional de maturação similar à das plantas geneticamente modificadas, as quais serão igualmente destruídas no final da libertação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

An, G., Mitra, A., Choi, H.K., Costa, M.A., An, K., Thornburg, R.W., Ryan, C.A. (1989) Functional analysis of the 3' control region of the potato wound-inducible proteinase inhibitor II gene. *Plant Cell*, 1, pp. 115-122

Barker, R.F., Idler, K.B., Thompson, D.V. and Kemp, J.D. (1983) Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Mol. Biol.* 2, pp. 335-350

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* sbsp. *aizawai*. *J. Bacter.*, 173, 13, pp. 3966-3976

Christensen, A.H., Sharrock, R. A., 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, pp. 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 authorizing 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 hybrid corn seed. *In: Corn and Corn Improvement*, Sprague, G.F. (ed). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, pp.671-719.

Del Valle, F.R., Pico, M.L., Camacho, J.L. and Bourges, H. (1983) Effect of processing parameters on trypsin inhibitor and lectin contents of tortillas from whole raw corn-soybean mixtures. *J. Food Sci.*, 48, pp. 246-252.

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) N°258/97 by Monsanto (Question N°ESFA-Q-2003-002). Opinion adopted on 25 November 2003. <http://www.efsa.eu.int>

EFSA (2003b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference CE/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 2001/18/EC from Monsanto (Question N°ESFA-Q-2003-003). Opinion adopted on 25 November 2003. <http://www.efsa.eu.int>

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 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds (Question No EFSA-Q-2004-011). Opinion adopted on 24 September 2004. <http://www.efsa.eu.int>

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. <http://www.efsa.eu.int>

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 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds (Question No EFSA-Q-2004-015) Opinion adopted on 19 January 2005. <http://www.efsa.eu.int>

Ellis, T.R., Stockhoff, B.A., Stamp, L., Schnepf, E.H., Schwab, G.E., Knuth, M., Russel, J., Cardineau, G.A., Narva, K.E. (2002) Novel *Bacillus thuringiensis* binary insecticidal crystal proteins active on western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *Appl. Environm. Microbiol.*, 68, pp. 1137-1145

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.

Hertig, C., Rebmann, G., Bull, J., Mauch, F., Dudler, R. (1991) Sequence and tissue-specific expression of a putative peroxidase gene from wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Mol. Biol.*, 16, pp. 171-174

Hoekstra, F.A., Crowe, L.M. and Crow J.H. (1989) Differential desiccation sensitivity of corn and *Pennisetum* pollen linked to their sucrose contents. *Plant, Cell and Environment*, 12:83-91.

Hohn, T., Richards, K., Lebeurier, G. (1982) Cauliflower mosaic virus on its way to becoming a useful plant vector. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 96, pp. 194-236

Jones, M.D. and Newell, L.C. (1948) Longevity of pollen and stigmas of grasses: buffalograss, *Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm. and corn, *Zea Mays* L. *Journal of American Society of Agronomy*, 40:195-204.

Lonnquist, J.H. and Jugenheimer, R.W. (1943) Factors affecting the success of pollination in corn. *Journal of the American Society of Agronomists*, 35:923-933.

Moellenbeck, D.J., Peters, M.L., Bing, J.W., Rouse, J.R., Higgins, L.S, Sims, L., Nevshemal, T., Marshall, L., Ellis, R.T., Bystrak, P.G., Lang, B.A., Stewart, J.L., Kouba, K., Sondag, V., Gustafson, V., Nour, K., Xu, D., Swenson, J., Zhang, J., Czaplá, T., Schwab, G., Jayne, S., Stockhoff, B.A., Narva, K., Schnepf, H.E., Stelman, S.J., Poutre, C., Koziel, M. and Duck, N. (2001). Insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* protect corn from corn rootworms. *Nat Biotechnol.*,19 (7): 668-72.

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 hybrid maize seed. *Agronomy Journal*, 41:574-583.

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

Wolfersberger, M.G., Hofmann, C. and Luthy, P. (1986) Interaction of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -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 hybrid seed corn. *In: Corn and Corn Improvement*, Sprague, G.F. and Dudley, J.W. (eds). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, pp.603-608.

**AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL PARA A  
LIBERTAÇÃO DELIBERADA DO MILHO  
59122X1507XNK603**

## **AVALIAÇÃO DO RISCO AMBIENTAL PARA A LIBERTAÇÃO DELIBERADA DO MILHO 59122X1507XNK603**

Esta notificação serve para consentir o registo seguro do milho 59122x1507xNK603 que expressa as proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT e CP4 EPSPS que conferem resistência a alguns insectos Coleópteros e Lepidópteros e tolerância aos herbicidas glufosinato de amónio e glifosato. O milho 59122x1507xNK603 deriva, por processos tradicionais de melhoramento, do cruzamento entre os milhos geneticamente modificados 59122, 1507 e NK603.

O objectivo desta libertação é avaliar, nas condições europeias, os efeitos do herbicida glifosato no milho 59122x1507xNK603.

O objectivo desta avaliação do risco ambiental é, numa base caso a caso, identificar e avaliar potenciais efeitos adversos do milho 59122x1507xNK603, directos e indirectos, imediatos ou a longo prazo na saúde humana ou no ambiente. A avaliação do risco ambiental para o registo seguro do milho 59122x1507xNK603, tem sido conduzida tendo em vista a identificação da necessidade de maneio do risco e se isso acontecer, quais os métodos mais apropriados a usar.

A avaliação do risco ambiental para a libertação deliberada do milho 59122x1507xNK603, 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 da libertação deliberada do milho 59122x1507xNK603 são apresentadas em seguida.

# CONCLUSÕES SOBRE O POTENCIAL IMPACTO AMBIENTAL QUE RESULTE DA LIBERTAÇÃO DELIBERADA 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 59122x1507xNK603 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 Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT e CP4 EPSPS no milho 59122x1507xNK603 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 59122x1507xNK603, 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 Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT e CP4 EPSPS no milho 59122x1507xNK603, confere vantagens específicas aos ambientes agrícolas: resistência a alguns insectos Coleópteros, tais como *Diabrotica virgifera virgifera* e resistência a certos 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 59122x1507xNK603 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 das proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F que confere resistência a alguns insectos Coleópteros e Lepidópteros não pode ser considerada uma vantagem selectiva fora do ambiente agrícola.

Além disso, a expressão das proteínas PAT e CP4 EPSPS, no milho 59122x1507xNK603, 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 guardados 400 metros de isolamento, como requerido pelas autoridades portuguesas, entre o milho experimental 59122x1507xNK603 e qualquer outro campo de milho não experimental. Adicionalmente, o ensaio será rodeado por 4 linhas de bordadura de um milho comercial de maturação similar, as quais serão igualmente destruídas no final da libertação.

Conforme discutido no Ponto 2., a modificação genética do milho 59122x1507xNK603, não introduz nenhuma selectividade 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 59122x1507xNK603 permite aos agricultores beneficiar de um mecanismo, altamente efectivo e ambientalmente seguro, que permite controlar certos insectos Coleópteros, tais como *Diabrotica virgifera virgifera* e insectos Lepidópteros, tais como *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia spp.* A eficácia deste milho poderia, no entanto, ser reduzida se as pragas referidas desenvolvessem resistência a proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F tal como a expressa no milho 59122x1507xNK603 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.

Mas, se no futuro o cultivo comercial for efectuado, será desenvolvida uma proposta detalhada para a prevenção de resistência aos insectos [(insect resistance management (IRM)] que será instituída no contexto de plano de acompanhamento e será aplicada quando o milho 59122x1507xNK603 for colocado no Mercado. Por exemplo, a implementação de zonas de refúgio (zonas cultivadas com milho não resistente aos lepidópteros e aos coleópteros) será efectuada de modo a assegurar que os raros insectos que se tornem resistentes às toxinas Cry34Ab1 e Cry35Ab1 ou Cry1F, que sobrevivam, possam cruzar-se com insectos sensíveis. Deste modo, a descendência irá manter a susceptibilidade àquelas toxinas e será controlada pelo cultivo do milho Bt.

Não é esperado nenhum outro potencial impacto ambiental de curto ou longo prazo resultante das interacções directas e indirectas do milho 59122x1507xNK603 com os organismos alvo do ambiente receptor decorrente da libertação deliberada do milho 59122x1507xNK603.

**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 59122x1507xNK603 resultará em impactos ambientais negligenciáveis de carácter imediato ou a longo prazo resultante das interacções directas e indirectas do milho 59122x1507xNK603 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 Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT e CP4 EPSPS, confirma que não haverá efeitos adversos, nesses organismos, provocados pelo milho 59122x1507xNK603.

**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 59122x1507xNK603 não introduz nenhum componente que possa causar, ou que se espere causar, efeitos imediatos ou de longo prazo na saúde humana resultante de possíveis interacções directas e indirectas do milho 59122x1507xNK603, 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 59122x1507xNK603.

Além disso, o milho 59122x1507xNK603, sujeito a ensaio 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 59122x1507xNK603, foi obtido por processos tradicionais de melhoramento através do cruzamento entre as linhas geneticamente modificadas 59122, 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 referido nos **Pontos 4 e 5**, a expressão das proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT e CP4 EPSPS no milho 59122x1507xNK603, não causará nenhum possível efeito imediato ou de longo prazo nos processos biogeoquímicos resultante de potenciais interacções directas e indirectas do milho 59122x1507xNK603 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 usadas para o milho 59122x1507xNK603 são idênticas às usadas para os milhos não geneticamente modificados, à excepção da aplicação do herbicida e do plano de monitorização proposto para o cultivo comercial do milho 59122x1507xNK603.

Por necessidade de estudo, serão colhidas algumas amostras. 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 59122x1507xNK603. Esta afirmação baseia-se em informação contida nesta notificação e nas seguintes notas de conclusão:

- Existe uma reduzida probabilidade do milho 59122x1507xNK603 se tornar ambientalmente persistente ou invasor em forma de infestante;
- A expressão das proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT e CP4 EPSPS, no milho 59122x1507xNK603, não lhe confere nenhuma vantagem selectiva fora do ambiente agrícola;
- Não existem na UE espécies geneticamente relacionadas com o milho. A modificação genética no híbrido 59122x1507xNK603 não introduz nenhuma vantagem selectiva às plantas de milho fora dos ambientes fortemente manuseados em agricultura;
- A libertação deliberada do milho 59122x1507xNK603 resulta em impactos reduzidos no ambiente quer imediatos quer de longo prazo resultantes de interacções directas e indirectas do milho 59122x1507xNK603 com organismos diferentes dos organismos alvo;
- As modificações genéticas do milho não introduzem nenhum componente novo conhecido por causar ou que se espera 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 que se espera 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 59122x1507xNK603 não causará nenhum efeito imediato ou de longo prazo nos processos biogeoquímicos;
- As práticas específicas de cultura, manejo e colheita, usadas para o milho 59122x1507xNK603, são idênticas às que se usam para milho não geneticamente modificado;
- A potencial redução no controlo de alguns insectos Coleópteros e Lepidópteros, se os insectos alvo desenvolverem resistência à proteína Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F que o milho 59122x1507xNK603 expressa, tem sido identificado o único potencial de risco resultante da interacção do milho 59122x1507xNK603 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 Prevenção de Resistência aos Insectos será desenvolvida em contexto de colocação no mercado do milho 59122x1507xNK603.

**INFORMAÇÃO ADICIONAL  
RELACIONADA COM O MILHO 59122**

## INFORMAÇÃO ADICIONAL RELACIONADA COM O MILHO 59122

### INTRODUÇÃO

Os insectos Coleópteros, tais como a *Diabrotica virgifera virgifera* e *Diabrotica barberi*, constituem importantes pragas nas culturas do milho. Alimentando-se nas raízes do milho, as larvas causam importantes danos nas raízes que resultam em redução nas produções. Os meios de prevenção correntemente disponíveis incluem a rotação de culturas e o uso de insecticidas químicos. Estes meios permitem somente limitar as populações de *Diabrotica*, reduzindo os danos na cultura mas não eliminam a praga. Além disso um importante número de Coleópteros pode sobreviver porque o campo não é tratado no seu todo, só as zonas perto das raízes principais são tratadas. A existência de pequenas áreas com monocultura de milho é suficiente para manter altas populações de *Diabrotica*, e assim permitir a sua reprodução e o aumento das zonas infestadas. Assim, é importante desenvolver meios de controlo eficientes de modo a proteger a cultura do milho destas pragas.

O milho geneticamente modificado 59122 foi modificado pela inserção dos genes *cry34Ab1* e *cry35Ab1* provenientes do *Bacillus thuringiensis* estirpe PS149B1, e do gene *pat* (phosphinothricin acetyltransferase gene), isolado de *Streptomyces viridochromogenes* introduzido como marcador selectivo.

Os genes *cry34Ab1* e *cry35Ab1* codificam para proteínas individuais com propriedades insecticida, respectivamente de 14kDa (*Cry34Ab1*) e 44kDa (*Cry35Ab1*). Em combinação estas proteínas actuam especificamente em espécies alvo que se alimentam no milho. O milho geneticamente modificado 59122 é uma importante ferramenta que permite contrariar eficientemente os danos causados por alguns insectos Coleópteros na cultura do milho, tais como *Diabrotica virgifera virgifera* e *Diabrotica barberi*.

O gene *pat*, inserido como marcador selectivo, codifica a proteína PAT (phosphinothricin acetyltransferase), que acetila a fosfonotricina, o ingrediente activo do herbicida glufosinato de amónio. Essa acetilação converte a fosfinotricina numa forma inactiva que não é tóxica para as plantas transgénicas, conferindo-lhe tolerância ao herbicida.