
PARECER TÉCNICO

Processo: 01200.005712/2015-16

Data de Protocolo: 17/12/2015

Próton: 79.355/2015

Requerente: Syngenta Seeds Ltda.

Assunto: Liberação comercial do milho Bt11 x MIR162 x MON 89034 x GA21, milho Bt11 x MIR162 x MON 89034 e milho MIR162 x MON 89034.

CQB: 001/96

CNPJ: 49.156.326/0001-00

Endereço: Rodovia BR-452, Km 142, Uberlândia/MG.

Presidente da CIBio: Cristhiane A.Bothona

Descrição do OGM: milho Bt11 x MIR162 x MON 89034 x GA21, milho Bt11 x MIR162 x MON 89034 e milho MIR162 x MON 89034.

Classificação: Classe de Risco I

Resolução Normativa: RN 05/2005

- ✓ Designação do OGM: milho Bt11 x MIR162 x MON 89034 x GA21, milho Bt11 x MIR162 x MON 89034 e milho MIR162 x MON 89034.
- ✓ Espécie: Zea mays L.
- ✓ Característica Inserida: Tolerância a herbicidas e resistência a insetos.
- ✓ Método de introdução da característica: O milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 foi desenvolvido através de melhoramento genético clássico, por cruzamento sexual entre linhagens geneticamente modificadas contendo o evento Bt11, o evento MIR162, o evento MON 89034 e o evento GA21.
- ✓ Uso proposto: cultivo, consumo animal e humano, manipulação, transporte, descarte, importação e exportação, e quaisquer outras atividades relacionadas a esse milho e suas progênies

1. Proteínas Expressas:

- ✓ CP4 EPSPS - confere tolerância ao glifosato;
- ✓ Cry1A.105 – confere resistência a insetos;
- ✓ Cry2Ab2 – confere resistência a insetos;
- ✓ Cry1Ab – confere resistência a insetos;
- ✓ NPTII - marcador de seleção;
- ✓ PAT – confere tolerância ao glufosinato de amônio;
- ✓ Vip3Aa20 – confere resistência a insetos;

2. **Área de Restrição Ambiental:** Conforme estabelecido no art. 1º da Lei 11.460, de 21 de março de 2007, “ficam vedados a pesquisa e o cultivo de organismos geneticamente modificados nas terras indígenas e áreas de unidades de conservação”.

3. **Fundamentação Técnica:**

A requerente através dos requisitos estabelecidos no Art. 4 da Resolução Normativa 05 da CTNBio, solicita a liberação para uso comercial milho Bt11x MIR162xMON34xGA21 e das sub-combinações dos milhos milho Bt11 x MIR162 x MON 89034 e milho MIR162 x MON 89034 (Art. 4 da RN5 e Art. 1 da RN 15).

A proposta de liberação comercial está constituída das seguintes informações:

I – **Requerimento de liberação comercial assinado pelo representante legal;**

De acordo com o requerido pela RN5.

II – **Parecer técnico da CIBio.** Bastante sintético o parecer da CIBio sobre o milho Bt11xMIR162xMON afirma que esse milho é tão seguro para saúde humana, animal e o meio ambiente quanto o milho convencional. Estudos prévios com esse milho já teriam sido aprovados pela CTNBio. Ela aprova o documento sobre biossegurança do milho Bt11xMIR162xMON.

III – **Declaração de veracidade das informações fornecidas pelo responsável legal.**

De acordo com o requerido pela RN 5.

IV – **Resumo executivo com a síntese da proposta.**

O Resumo Executivo apresenta um resumo geral da proposta, cujos pontos principais incluem:

O milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 foi desenvolvido através de melhoramento genético clássico, por cruzamento sexual entre linhagens geneticamente modificadas contendo o evento Bt11, o evento MIR162, o evento MON 89034 e o evento GA21 aprovados previamente para liberação comercial pela CTNBio. Os milhos Bt11, MIR162, MON 89034 e o milho GA21 já são comercializados no Brasil e em outros países e informações sobre seus eventos de transformação são bastante conhecidas. Ao longo do processo de desenvolvimento do milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 não houve outras modificações genéticas, além da introgressão destes eventos nas linhagens de milho, por meio de melhoramento genético clássico.

O milho Bt11 inclui o gene cry1Ab de *Bacillus thuringiensis*, que confere resistência a certos insetos lepidópteros, e o gene pat, derivado do microorganismo de solo *Streptomyces viridochromogenes*, que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio e foi utilizado como marcador de seleção durante o processo de transformação.

O milho MIR162 foi obtido a partir da inserção do gene vip3Aa20 de *Bacillus thuringiensis*, que confere resistência a insetos lepidópteros.

O milho MON 89034 foi produzido a partir da inserção dos genes cry1A.105 e cry2Ab2 de

Bacillus thuringiensis, que conferem resistência a certos insetos lepidópteros.

O evento GA21 contém o gene *mepsps* que expressa a enzima Sintase 5- Enolpiruvil Shikimato-3-Fosfato mutada (mEPSPS). A EPSPS é uma enzima chave no processo do ácido shiquímico, envolvido na biossíntese dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano), encontrada naturalmente em plantas, fungos, bactérias, e ausente nos animais. A EPSPS é altamente sensível a produtos herbicidas contendo glifosato.

O objetivo de desenvolver o milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 é propiciar controle da praga *Spodoptera frugiperda*, uma das principais pragas da cultura do milho, e maior flexibilidade no manejo de plantas daninhas, pela tolerância aos herbicidas glufosinato de amônio e glifosato, proporcionando uma importante ferramenta de manejo da resistência, já que as proteínas expressas apresentam mecanismos de ação distintos.

Considerando que os eventos Bt11, MIR162, MON 89034 e GA21 já tiveram suas avaliações de biossegurança realizadas, no presente processo de pedido de liberação comercial foram contempladas as informações do milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 quanto a sua caracterização molecular, possível interação das proteínas expressas, equivalência substancial, equivalência agrônômica, eficácia no controle da lagarta do cartucho, eficácia da tolerância aos herbicidas glufosinato de amônio e glifosato e impacto de seu cultivo sobre organismos não-alvos.

Análise molecular comparativa foi realizada com a finalidade de confirmar a integridade genética dos insertos individuais ao longo do processo de melhoramento genético clássico utilizado para obter o milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21. Os fragmentos hibridizados a partir do DNA do milho combinado Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 apresentaram o tamanho esperado para os eventos Bt11, MIR162, MON 89034 e GA21, demonstrando que a integridade dos insertos foi mantida durante o processo de melhoramento.

Não foi evidenciada nenhuma tendência a mudanças da expressão da proteínas ou outro efeito em função da combinação destes eventos por melhoramento genético clássico. Não foram observadas diferenças na composição de grãos e forragem de plantas derivadas do milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 e seu controle não GM. Avaliação das características agrônômicas e fenotípicas realizados em cinco locais do Brasil comprovaram que o milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 apresenta as mesmas características do milho não GM, e que a combinação dos eventos através de melhoramento genético clássico não levou à expressão de qualquer outra característica diferente daquela já esperada.

Conforme levantamento de entomofauna realizado para o milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 em comparação ao milho não GM, em ensaios conduzidos no Brasil, na safra 2014/2015, seu cultivo não causa diferente impacto sobre organismos não alvo quando comparado ao cultivo de um milho não geneticamente modificado.

Portanto, o relatório executivo conclui pela segurança do milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21.

V – Informações sobre o OGM (anexo II da RN 5).

O milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 foi desenvolvido por meio de melhoramento genético clássico, por cruzamento sexual entre linhagens geneticamente modificadas (GM) contendo os eventos Bt11, MIR162, MON 89034 e GA21 já aprovados para liberação comercial pela CTNBio. No Brasil foram aprovados pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) para utilização comercial, milhos contendo as

combinações Bt11xMIR162, Bt11xGA21, Bt11xMIR162xGA21, Bt11xMIR162xMIR604xGA21, Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21, MON 89034xNK603, MON 89034xTC1507xNK603 e MON 89034xMON 88017.

O objetivo de desenvolver o milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 é propiciar contra o danos produzidos por insetos lepidópteros e tolerância aos herbicidas glufosinato de amônio e glifosato. A resistência a lepidópteros é dada pela expressão das proteínas Cry1Ab, Cry1A.105, Cry2Ab2 e Vip3Aa20 provenientes dos parentais Bt11, MON 89034 e MIR162, respectivamente, já a tolerância ao glufosinato de amônio e glifosato é dada pela expressão das proteínas PAT e mEPSPS provenientes dos parentais Bt11 e GA21, respectivamente. As proteínas Cry (Cry1Ab, Cry1A.105, Cry2Ab2) são d-endotoxinas altamente específicas para as lagartas de certas espécies de lepidópteros. As proteínas Vip3A (Vip3Aa20) é secretada na fase de crescimento vegetativo de *Bacillus thuringiensis*. A proteína Vip3Aa20 expressa no milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 é parte do grupo de proteínas Vip3A, caracterizadas e claramente distintas do grupo de proteínas Cry. Esta molécula de aproximadamente 88 kDa é ativada em um fragmento de aproximadamente 62 kDa ao longo da digestão do inseto. Nesse caso, apesar da ocorrência de outras modificações estruturais, a ativação proteolítica é considerada a etapa crítica para o modo de ação de Vip3A, já que a proteína íntegra é incapaz de formar poros no intestino dos insetos.

A análise do padrão de digestão do DNA genômico foi feita em comparação com DNA dos eventos únicos (Bt11, MIR 162, MON 89034, GA21) e os controle (milho não GM). Os resultados demonstram que o padrão de bandas em Southern blot foi idêntico em todos os casos, indicando que no processo de melhoramento não alteração da inserção desses genes.

Todos os eventos em questão foram aprovados individualmente pela CTNBio (milho MON 89034 com 31 processos, milho MON87427 com 7 processos, milho MIR 162 com 19 processos,

Todos os eventos individuais (Bt11, MIR 162, MON 89034, GA21) já liberados comercialmente em vários países. Não encontrei registro de liberação comercial do milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21. Estaria em requerimento em outros países.

De acordo com o Art. 4 da RN 15 de 13/02/2015 a empresa solicita também a liberação comercial dos milhos Bt11 x MIR162 x MON 89034 e milho MIR162 x MON 89034.

VI – Avaliação de risco à saúde humana (Anexo III da RN 5)

O texto apresentado no item 3.6 do relatório traz uma revisão bibliográfica sobre a segurança das proteínas produzidas pelo transgene Bt (Cry1aB e Vip3Aa), relatando impactos na redução de toxinas em milho pela redução de infecções secundárias por fungos, na degradação dessas proteínas, toxicidade em humanos (estudo considerado questionável), alimentação de suínos (teores de citocinas, de IgG e IgA). Exploram os resultados de Van Eenannaam e Young (2014) sobre uma amplo estudo sobre o impacto de alimentos GM sobre rebanho animais. Dados sobre a produtividade e saúde animal americana (frangos, galinhas poedeiras, perus, gado de corte, gado de leite e suínos), foram compilados a partir de fontes confiáveis e disponíveis ao público a partir de 1983, antes da introdução das plantas GM em 1996, e posteriormente, até 2011, um período predominantemente com altos níveis de animais alimentados com ração com conteúdo de eventos GM. Na avaliação de dados (produção de leite; peso da carcaça de bovinos; peso da carcaça de frangos de corte; peso da carcaça suína;

frangos de corte: % de animais condenados, tempo para chagada ao mercado, taxa de mortalidade, taxa de conversão de alimentação; % de pós morte de gado, novilhas, vacas e touros) das duas sequências históricas (não GM 1983 a 1994 e GM 2000 a 2011) fica evidente que a introdução das plantas GM (milho e soja principalmente), não revelou tendências perturbadoras ou desfavoráveis na saúde dos animais e da produtividade, mesmo tendo múltiplas gerações de animais que se alimentaram com ração contendo eventos GM no período de 2000 a 2011.

VII - Avaliação de risco ao meio ambiente (Anexo IV da RN 5).

Várias pesquisas investigaram a exposição potencial e os efeitos das culturas Bt para os organismos aquáticos, em invertebrados (aranhas, joaninhas, crisopídeos, outros insetos). De acordo com a interpretação do relatório, nenhum estudo demonstra inequivocamente efeito de proteínas Bt nesses insetos ou em colêmbolos, dípteras, anelídeos, caracóis, nematóides, comunidades microbianas no solo, fungos micorrízicos arbusculares. Todas as conclusões são essa milho GM não apresenta nenhum impacto ao meio ambiente.

Parecer:

O relatório conclui que com base nas evidências da literatura científica atual para as proteínas Cry1Ab, Vip3Aa20, Cry1A.105, Cry2Ab2, PAT e mEPSPS e das evidências apresentadas sobre a ausência de interação entre eventos do milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21, não é esperado nenhum novo risco em relação a sua segurança alimentar e ambiental.

Os problemas encontrados no Relatório de Biossegurança do milho Bt11xMIR162xMON 89034xGA21 foram:

- Ele não apresenta todos os itens solicitados nos anexos II, III, IV da RN5, muito embora todos os genes em questão já teriam sido previamente avaliados em todos esses pontos, em eventos já aprovados pela CTNBio.

- Ele apresenta um revisão bibliográfica da qual podem ser inferidas várias das informações requeridas nos anexos da RN5, mas essas informações não estão sistematizadas e estão dispersas no texto, referindo-se quase que exclusivamente ao efeito de proteínas de *B. thuringiensis* (Cry1aB e Vip3Aa), sem mencionar as proteínas associadas a resistência a herbicidas (Glifosato e Glufosinato de amônia).

Portanto, recomendo que o processo seja colocado em DILIGÊNCIA para que todas as informações requeridas para liberação comercial sejam fornecidas pela empresa.

Recomenda-se que as informações próprias ou de literatura a serem apresentados para atender a diligência sejam sistematizados de acordo com os anexos da RN5:

ANEXO II INFORMAÇÕES RELATIVAS AO OGM

Informar:

1. a identificação do evento de transformação genética, objetivo e utilização do OGM e seus derivados;
2. a classificação taxonômica, a partir de família, até o nível mais detalhado do organismo a ser liberado, incluindo, quando apropriado, subespécie, cultivar, patovar, estirpe e sorotipo;
3. o genes introduzidos, organismos de origem e suas funções específicas;
4. o vetor utilizado e seu espectro de hospedeiros;

5. o mapa genético utilizado no processo de transformação (transgene/vetor), indicando as regiões que especificam função - promotores, elementos reguladores em cis, genes marcadores de seleção e origem de replicação;
6. o resumo das construções para obtenção do OGM;
7. a classificação de risco do organismo geneticamente modificado de acordo com a Resolução Normativa n.º 2, de 27 de novembro de 2006;
8. os métodos utilizados para a modificação genética;
9. a caracterização molecular do inserto no organismo receptor, fornecendo informações relacionadas a: (1) número de cópias inseridas; (2) localização do inserto no genoma, quando possível; (3) sequências flanqueadoras do gene; (4) sequência nucleotídica do transgene inserido no OGM, indicando os elementos reguladores presentes – promotores, elementos reguladores em cis, sítios de poliadenilação, introns e exons e região de terminação da transcrição;
10. o produto da expressão do gene inserido no organismo receptor, descrito em detalhes;
11. as técnicas de detecção gerais e específicas do OGM, apresentando metodologia pertinente;
12. o padrão de herança genética dos genes inseridos;
13. a descrição dos efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos, quando observados;
14. o grau de estabilidade genotípica, especificando a metodologia utilizada e o número de gerações avaliadas;
15. a existência de interações com efeitos adversos, quando dois ou mais genes forem introduzidos no mesmo OGM, por técnicas de ADN recombinante e suas possíveis conseqüências;
16. as modificações genéticas incluídas no OGM que podem alterar sua capacidade de reprodução, sobrevivência, disseminação ou transferência de genes inseridos para outros organismos;

ANEXO III

AVALIAÇÃO DE RISCO À SAÚDE HUMANA E ANIMAL

(A) Organismos consumidos como alimento

Informar:

1. o histórico de uso na alimentação, no Brasil e em outros países do organismo parental ou doador, indicando o nível de consumo, o processamento anterior ao consumo e as espécies animais que se alimentam destes organismos;
2. possíveis efeitos na cadeia alimentar humana e animal pela ingestão de OGM e seus derivados;
3. as diferenças de composição química e nutricional entre o alimento oriundo do vegetal geneticamente modificado e do vegetal não modificado, *in natura* ou após processamento e a existência de equivalência substancial entre o OGM e seu organismo parental;
4. as alterações relativas ao desempenho do animal, quando alimentado com organismos geneticamente modificados ou qualquer de suas partes, *in natura* ou após processamento, fornecendo, inclusive, os resultados da avaliação da nutrição em animais experimentais por duas gerações, indicando as espécies utilizadas nos testes, duração dos experimentos, variações fisiológicas e morfológicas observadas em relação aos grupos-controle e alteração da qualidade nutricional, se houver;
5. a estabilidade à digestão e ao processamento industrial da proteína especificada pelo transgene com base nas propriedades físico-químicas;
6. os possíveis efeitos deletérios do OGM em animais prenhes e seu potencial teratogênico;
7. as conclusões de análises imunológicas e histológicas de tecidos relevantes, especialmente do trato digestivo;
8. a capacidade do OGM de produzir toxinas ou metabólitos que causem efeitos adversos ao consumidor, animal ou humano, relatando as evidências experimentais;
9. as avaliações toxicológicas e farmacológicas realizadas em animais experimentais, descrevendo os resultados;
10. a similaridade dos produtos de expressão do OGM com alérgenos conhecidos, relatando possíveis reações alérgicas identificadas após ingestão do OGM nas avaliações em animais experimentais, descrevendo os resultados.

(B) Microrganismos utilizados como vacinas

Informar:

1. a doença a ser controlada com o emprego da vacina e a espécie hospedeira, indicando os órgãos colonizados pela vacina, se viva e as espécies hospedeiras do organismo parental, a partir do qual a vacina foi construída;
2. o nível e duração da imunidade produzida na espécie hospedeira após a vacinação com o OGM, informando por quanto tempo pode-se detectar o OGM nos animais vacinados ou em seus excrementos, fornecendo as evidências experimentais;
3. a possível disseminação do organismo vacinal de animais vacinados para outros não vacinados ou para outras espécies, incluindo seres humanos, informando os mecanismos e a frequência deste evento com dados experimentais;
4. os detalhes, se for o caso, de suscetibilidade do hospedeiro ao organismo vacinal afetada pelo estado geral (por exemplo, imunossupressão ou concomitância de outra doença) ou por tratamentos medicamentosos ou outros;
5. as evidências experimentais de que o material genético do organismo vacinal se incorporou integral ou parcialmente ao genoma de células do hospedeiro vacinado;
6. a possibilidade de reversão de uma vacina viral ao estado selvagem, por recombinação ou complementação com outros vírus intracelulares, fornecendo resultados experimentais se o fenômeno ocorrer;
7. os possíveis efeitos deletérios da vacina sobre animais prenhes e seu potencial teratogênico, descrevendo os testes de eficiência e inocuidade realizados;
8. as possíveis interferências do organismo vacinal na eficácia de outras vacinações ou em imunizações subsequentes contra outras doenças.

ANEXO II INFORMAÇÕES RELATIVAS AO OGM

Informar:

1. a identificação do evento de transformação genética, objetivo e utilização do OGM e seus derivados;
2. a classificação taxonômica, a partir de família, até o nível mais detalhado do organismo a ser liberado, incluindo, quando apropriado, subespécie, cultivar, patovar, estirpe e sorotipo;
3. o genes introduzidos, organismos de origem e suas funções específicas;
4. o vetor utilizado e seu espectro de hospedeiros;
5. o mapa genético utilizado no processo de transformação (transgene/vetor), indicando as regiões que especificam função - promotores, elementos reguladores em cis, genes marcadores de seleção e origem de replicação;
6. o resumo das construções para obtenção do OGM;
7. a classificação de risco do organismo geneticamente modificado de acordo com a Resolução Normativa n.º 2, de 27 de novembro de 2006;
8. os métodos utilizados para a modificação genética;
9. a caracterização molecular do inserto no organismo receptor, fornecendo informações relacionadas a: (1) número de cópias inseridas; (2) localização do inserto no genoma, quando possível; (3) sequências flanqueadoras do gene; (4) sequência nucleotídica do transgene inserido no OGM, indicando os elementos reguladores presentes – promotores, elementos reguladores em cis, sítios de poliadenilação, introns e exons e região de terminação da transcrição;
10. o produto da expressão do gene inserido no organismo receptor, descrito em detalhes;
11. as técnicas de detecção gerais e específicas do OGM, apresentando metodologia pertinente;
12. o padrão de herança genética dos genes inseridos;
13. a descrição dos efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos, quando observados;

-
14. o grau de estabilidade genotípica, especificando a metodologia utilizada e o número de gerações avaliadas;
15. a existência de interações com efeitos adversos, quando dois ou mais genes forem introduzidos no mesmo OGM, por técnicas de ADN recombinante e suas possíveis conseqüências;
16. as modificações genéticas incluídas no OGM que podem alterar sua capacidade de reprodução, sobrevivência, disseminação ou transferência de genes inseridos para outros organismos;

Data: 27/07/2016

Dr. Marcos Antonio Machado
Membro da CTNBio

Orlando Cardoso
Assessor Técnico