

## PARECER RELATOR

**Processo:** 01250.082241/2017-36

**Data de Protocolo:** 18/12/2017

**Requerente:** Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.

**Assunto:** Liberação comercial de milho (*Zea mays* L.) geneticamente modificado, evento MZIR098.

**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 MZIR098 contém os genes *ecry3.1Ab* e *mcry3A*, que codificam as proteínas inseticidas *eCry3.1Ab* e *mCry3A*, e o gene *pat-08*, que codifica a enzima fosfinotricina-acetiltransferase (PAT).

**Classificação:** Classe de Risco I

**Resolução Normativa:** RN 09/2011

- ✓ Designação do OGM: milho MZIR098.
- ✓ Espécie: *Zea mays* L.
- ✓ Característica Inserida: Tolerância a herbicidas e resistência a insetos.
- ✓ Método de introdução da característica: O milho MZIR098 foi desenvolvido por meio de transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.
- ✓ Uso proposto: a alimentação humana e animal apenas e não para cultivo, no que se refere à manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo, liberação e descarte deste Organismo Geneticamente Modificado (OGM) e seus derivados, bem como suas progênies.

### 1. Proteínas Expressas:

- ✓ Cry3.1Ab – confere resistência a insetos;
- ✓ Cry3A – confere resistência a insetos;
- ✓ PAT – confere tolerância ao glufosinato de amônio;

**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”. Também fica proibido o plantio comercial do MZIR098 no Brasil, sendo seu uso restrito na alimentação animal e humana.

**3. Fundamentação Técnica:** A Syngenta desenvolveu o evento MZIR098 com o objetivo de combinar molecularmente em um único evento os genes *ecry3.1Ab* e *mcry3A*, que são idênticos aos genes contidos nos eventos geneticamente modificados da Syngenta 5307 e MIR604, anteriormente aprovados pela CTNBio. O milho MZIR098 contém os genes *ecry3.1Ab* e *mcry3A* e *pat-08*. O gene *ecry3.1Ab* consiste de uma fusão entre o final 5’ de um gene modificado *Cry3A* e o final 3’ de um gene sintético de *Cry1Ab*. O gene *mcry3A* é uma sequência sintética baseada na proteína *Cry3A* natural de *B. thuringiensis* sub. *tenebrionis*. O gene *pat-08* foi derivado da bactéria do solo *Streptomyces viridochromogenes* e codifica a enzima fosfinotricina acetiltransferase (PAT) usada como marcador.

O “Relatório de Biossegurança Alimentar do Milho MON 87460” foi elaborado conforme a Resolução Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovação e Comunicações Comissão Técnica Nacional de Biossegurança Coordenação Geral 2 Normativa nº5 de 13/03/2008, que dispõe sobre normas para liberação comercial de organismos geneticamente modificados e seus derivados. A CIBio da Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. levou em consideração os resultados de estudos realizados com o milho MZIR098 nos Estados Unidos. As informações e os resultados apresentados no “Relatório de Biossegurança Alimentar do Milho MZIR098” demonstram a segurança do referido evento, esse foi aprovado pela CIBio Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, que considerou esse transgênico

**SPO – Área 05 – Quadra 03 Bloco B – Térreo – Salas 08 a 10**

**Brasília, DF – CEP: 70610-200**

**Fones: (55)(61) 3411 5516– FAX: (55)(61) 3317 7475**

tão seguro quanto o milho convencional. No Brasil, o milho (*Zea mays* L.) é o segundo grão mais cultivado, ficando a soja em primeiro lugar. Na safra 2017/2018, a produção brasileira de milho tem média estimada em aproximadamente 87 milhões de toneladas, segundo o levantamento de abril/2018 da CONAB (CONAB, 2018).

**Informações relativas ao OGM:** O Milho MZIR098 foi desenvolvido a partir do uso dos seguintes genes: gene *ecry3.1Ab*, que consiste de uma fusão entre o final 5' de um gene modificado *Cry3A* e o final 3' de um gene sintético de *Cry1Ab*; gene *mcry3A*, uma sequência sintética baseada na proteína *Cry3A* natural de *B. thuringiensis* sub. *tenebrionis* (SEKAR et al., 1987), que uma vez otimizado para milho foi alterado para incorporar um sítio de reconhecimento consensual da protease G catépsina dentro da proteína expressa. A sequência de aminoácido da *mCry3A* codificada corresponde àquela da *Cry3A* natural. O gene *pat-08* é expresso no evento MZIR098 usando o promotor 35S-04 do vírus do mosaico da couve-flor, que confere expressão constitutiva da proteína PAT, que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio (fosfotricina). Esse gene foi utilizado como um marcador de seleção no desenvolvimento do milho MZIR098.

A proteína *Cry3A* nativa da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* é ativa contra determinados coleópteros praga. A proteína modificada *mCry3A* produzida pelo milho MZIR098 melhorou a atividade contra a broca da raiz do milho (*Diabrotica virgifera virgifera*) e outros coleópteros praga da cultura do milho. A proteína modificada *eCry3.1Ab* é uma quimera de *Cry1Ab* e *mCry3A* que é também ativa contra *D. virgifera virgifera* e outras pragas relacionadas à cultura do milho. A *Cry1Ab* nativa de *B. thuringiensis* sub. *kurstaki* é ativa contra determinados lepidópteros praga do milho; no entanto, a porção de *Cry1Ab* incluída na *eCry3.1Ab* não preservou a atividade de *Cry1Ab* contra lepidópteros. O gene *pat-08* foi derivado da bactéria do solo *Streptomyces viridochromogenes*.

Os genes previamente descritos foram inseridos em planta de milho utilizando o método de transformação genética mediada por *Agrobacterium* spp. O primeiro cassete de expressão consiste da região codificadora de *ecry3.1Ab* regulada por um promotor CMP do vírus do enrolamento da folha amarela de cestrum (CMP-04) e a sequência do terminador da nopalina sintase (NOS) de *A. tumefaciens* (NOS-05-01), assim como a sequência do realçador NOS (NOS-02). O segundo cassete de expressão consiste da região codificadora de *mcry3A* regulada por um promotor da ubiquitina do milho (Ubi1-18) e o terminador NOS (NOS-20). O terceiro cassete de expressão consiste da região codificadora do gene *pat-08* regulada por um promotor 35S do vírus do mosaico da couve-flor (35S-04) e o terminador NOS (NOS-05-01).

**Caracterização molecular do inserto no organismo receptor:** Na caracterização molecular do milho MZIR098 apresentada pela empresa proponente, os resultados confirmaram que este evento possui as seguintes características: 1) presença de um único inserto com a sequência de interesse, e ausência do inserto em outras regiões do genoma; 2) ausência de sequências do plasmídeo; 3) o inserto demonstrou-se estável em várias gerações. A estabilidade do DNA integrado e a ausência de sequências do plasmídeo em três gerações testadas no milho MZIR098 foram também confirmadas.

A análise da sequência de nucleotídeos determinou que a inserção MZIR098 consiste da região do pSYN17629 T-DNA intacta, os resultados das análises de Southern blot são consistentes com os resultados da análise de sequência de nucleotídeos. As análises BLASTN e BLASTX comparando a sequência genômica do milho que flanqueia a inserção MZIR098 com sequências em bancos de dados públicos indicaram que a inserção não rompe qualquer gene endógeno conhecido do milho. As sequências genômicas das regiões flanqueadoras 5' e 3' do inserto MZIR098 foram examinadas por similaridade às sequências encontradas no genoma mapeado do milho, e indicaram que o inserto está no cromossomo 10. A análise de sequência do sítio de inserção MZIR098 demonstrou que 24 pares de bases da sequência genômica do milho foram deletados durante a integração da inserção MZIR098. A análise de bioinformática indicou uma ORF  $\geq 30$  aminoácidos na junção entre o genoma do milho e a inserção MZIR098, porém essa sequência da junção não compartilha semelhança de sequência de aminoácidos biologicamente relevante com proteínas toxinas conhecidas ou putativas.

A análise de estabilidade de gerações demonstrou que a assinatura esperada de Southern blot do milho MZIR098 foi mantida ao longo de cinco gerações de cruzamento, confirmando, assim, a estabilidade do inserto de DNA ao longo de múltiplas gerações. Também foi possível mostrar que essas gerações não continham qualquer sequência da matriz do plasmídeo.

**Efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos:** Não foram observados efeitos pleiotrópicos e epistáticos ocasionados pela presença do evento MZIR098. Uma extensiva caracterização agrônômica conduzida em condições de campo nos EUA no ano de 2015 e 2016 e com resultados dos estudos de biossegurança à saúde humana e animal

para o milho MZIR098 corroboram com a afirmação de que a inserção dos transgenes no referido milho não gerou, ampliou ou modificou a expressão de outros genes de forma relevante ou observável.

O potencial de interações sinérgicas e antagônicas entre eCry3.1Ab e mCry3A foram testadas em *L. decemlineata*, organismo sensível ao efeito tóxico de ambas as proteínas (SEASTRUM, 2010). Os dados destes estudos foram utilizados para avaliar o potencial de interações proteicas em avaliações de segurança de mamíferos. Os resultados corroboram a hipótese de que não existe sinergia entre eCry3.1Ab e mCry3A. Os resultados sugerem que os efeitos de eCry3.1Ab e mCry3A em organismos não alvo não serão maiores do que os efeitos adicionais destas proteínas quando testados separadamente (RAYBOULD, 2011). A segurança das proteínas transgênicas co-expressas também pode ser avaliada por modelos toxicológicos que consideram as proteínas equivalentes aos produtos químicos em uma mistura

**Segurança alimentar para humano e animal:** A caracterização realizada confirmou a segurança das proteínas para o consumo humano e animal. As avaliações incluíram as seguintes metodologias: 1) avaliação da similaridade de cada proteína com substâncias tóxicas ou alergênicas e outras substâncias biologicamente ativas conhecidas que possam ter efeitos adversos para mamíferos; 2) foram conduzidas análises quantitativas de 73 componentes nutricionais do grão e nove componentes na forragem, incluindo nutrientes chave de alimentos e rações, metabólitos vegetais secundários e antinutrientes. 3) avaliação da digestibilidade das proteínas em fluidos gastrointestinais simulados; 4) estado de glicosilação das proteínas; 5) suscetibilidade a inativação por calor; 6) documentação do histórico de uso e consumo seguro das proteínas ou dos homólogos estruturais e funcionais que não possuem efeito adverso documentado para saúde humana ou animal; 7) avaliação da potencial toxicidade para mamíferos através de análise de administração forçada da proteína (gavagem).

Todas as avaliações indicaram que as proteínas Cry3A, Cry3.1Ab e PAT seguras para o consumo humano e animal. Estas proteínas não possuem qualquer similaridade com substâncias tóxicas, alergênicas ou outras proteínas antinutricionais conhecidas. Ainda, essas proteínas são rapidamente digeridas em fluidos gástricos e intestinais simulados e nenhuma delas possui toxicidade aguda em avaliações de administração por gavagem, mesmo em alta dose de exposição (NOAEL > 2000mg/kg peso). As proteínas mostraram-se termosensíveis. Considerando todas as avaliações e análises, fica evidenciado que a exposição alimentar das proteínas Cry3A, Cry3.1Ab e PAT expressas no milho MZIR098 não causam qualquer risco para a saúde humana ou animal. Detalhada avaliação da composição centesimal e nutricional do milho MZIR098 (minerais, vitaminas, ácidos graxos) comparado com o milho controle convencional confirmou que este milho é tão seguro e nutritivo quanto o milho convencional. As amostras foram geradas a partir de oito locais diferentes nos Estados Unidos na safra de 2013. Os resultados destas análises adicionais corroboraram que o milho MZIR098 é composicional e nutricionalmente equivalente ao milho convencional. O milho MZIR098 apresenta histórico de uso seguro, suas proteínas adicionais não têm características associadas às proteínas tóxicas ou alergênicas conhecidos, e está aprovado por diversas agências reguladoras em mais de 10 países para consumo humano e em vários outros para consumo animal e cultivo. O documento encaminhado pela requerente trata da biossegurança alimentar do milho MZIR098, sem requerimento para plantio no Brasil, por esta razão os dados das avaliações ambientais não são aqui apresentados.

**4. Parecer:** O conjunto dos dados apresentados reforça que rações e alimentos produzidos a partir do milho MZIR098 são tão seguros e nutricionalmente equivalente àqueles produzidos pelo milho convencional. A requerente solicita o requerimento de liberação comercial desse produto com base na Resolução Normativa nº05, na caracterização molecular do milho MZIR098, nos estudos de biossegurança alimentar realizados nos USA, na literatura e no histórico de uso e exposição desse produto em diversos países, sem relatos de efeitos adversos à saúde humana e animal. A requerente apresentou apenas a caracterização molecular e os dados de segurança alimentar do milho MZIR098. Os resultados de estudos de campo e avaliação agrônômica e fenotípica não foram apresentados. Caso este evento de transformação seja exposto não intencionalmente no ambiente de outra forma que não para uso em alimentação humana e animal, a requerente ressalta que ele é tão seguro quanto o milho convencional também nas suas características agrônômicas e fenotípicas. O milho MZIR098 encontra-se aprovado nos EUA (2007), na Austrália (2008), Nova Zelândia (2008), Canadá (2008), Filipinas (2008), México (2008), Japão (2010), Rússia (2010), Taiwan (2010), Coreia do Sul (2011), Indonésia (2011), China (2013), Colômbia (2016) e Malásia (2016). Considerando que: 1) Que estudos de toxicidade oral aguda em camundongos demonstraram que essas proteínas não apresentam toxicidade aguda e não causam nenhum efeito adverso. 2) As proteínas Cry3A, Cry3.1Ab e PAT são rapidamente digeridas em fluidos gástrico e intestinal simulados. Proteínas que são rapidamente digeridas nos sistemas gastrointestinais de mamíferos apresentam probabilidade desprezível de causar alergias quando consumidas. 3) As proteínas Cry3A, Cry3.1Ab e PAT não compartilham nenhuma similaridade de sequência de aminoácidos com alérgenos conhecidos, gliadinas, gluteninas ou proteínas tóxicas que causem efeitos adversos em

mamíferos. Isso foi mostrado em avaliações utilizando ferramentas de bioinformática. 4) Não se espera possíveis efeitos deletérios do OGM em animais prenhes bem como também não se espera potencial teratogênico, já que as proteínas expressas não produzem efeitos adversos em animais prenhes e sua progênie, além da alta digestibilidade no trato gastrointestinal. Salienta-se que o evento MZIR098 combina em um único evento molecular os genes *ecry3.1Ab* e *mcry3A*, que são idênticos aos genes contidos nos eventos geneticamente modificados da Syngenta 5307 e MIR604, anteriormente aprovados pela CTNBio.

Com base no acima citado, somos pelo DEFERIMENTO do pedido da empresa Syngenta Proteção de cultivos Ltda que solicita a Liberação comercial do milho MZIR098 e seus derivados para uso exclusivo na alimentação Humana e Animal incluindo as finalidades de manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo e descarte deste Milho GM e de seus derivados. Este DEFERIMENTO NÃO INCLUI autorização para plantios comerciais do Milho MZIR098. Com o objetivo de evitar o fluxo gênico dos grãos, considerando que o uso proposto é apenas para alimentação humana e animal, deverão ser adotadas as seguintes medidas de biossegurança:

- (i) Notificar previamente o MAPA (os órgãos de registro e fiscalização) sobre o local de internalização dos grãos de milho, data, quantidade e local de destino;
- (ii) Durante as operações de carga e descarga, todo o material derramado, se houver, deverá ser coletado e depositado nos veículos de transporte ou destruído, sob a responsabilidade do importador;
- (iii) O transporte do ponto de ingresso para o estabelecimento de destino deverá ser feito em "transportadores" que assegurem a cuidadosa contenção do produto, de maneira a evitar dispersão dos grãos de milho geneticamente modificado no meio ambiente;
- (iv) Apenas produtos derivados de milho não contendo formas viáveis e obtidos após o processamento poderão ser utilizados para a alimentação;
- (v) Nas unidades de processamento, toda a movimentação do milho importado deverá ser registrada e executada com acompanhamento de responsável técnico, de forma a evitar a dispersão no meio ambiente;
- (vi) Os grãos de milho derramados inadvertidamente nas áreas próximas às unidades de armazenamento e/ou moega deverão ser coletados e juntados ao montante original ou destruídos, sob a responsabilidade do responsável técnico do estabelecimento;
- (vii) Os resíduos provenientes da limpeza de equipamentos, silos ou armazéns de estocagem deverão ser obrigatoriamente destruídos;
- (viii) Todas as fases de movimentação dos grãos deverão ser registradas de forma a se ter a rastreabilidade do produto. Toda a documentação deverá ser mantida à disposição da fiscalização;
- (ix) Liberações acidentais no meio ambiente do grão de milho geneticamente modificado deverão ser imediatamente comunicados à CTNBio e aos órgãos e entidades de registro e fiscalização. Os procedimentos e demais medidas complementares deverão ser estabelecidos pelos órgãos de fiscalização e controle.

Data: 14 de abril de 2018.

**Dr(a). Carla Andréa Delatorre**  
**Membro da CTNBio**