

PARECER TÉCNICO SETORIAIS DE SAÚDE HUMANA/ANIMAL

Processo nº: 01200.005987/2013-98

Requerente: Syngenta Seeds Ltda.

Próton: 57914/13

Assunto: Solicitação de Liberação comercial de milho geneticamente modificado (RN5)

Extrato Prévio: 3944/14 publicado em 20/01/14

Reunião: ____ Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em _____

Decisão: **DEFERIDO**

A CTNBio, após apreciação do processo de pedido de Parecer Técnico referente à biossegurança de produto para liberação comercial, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico.

No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

PARECER TÉCNICO

EMENTA: A requerente solicita à CTNBio Parecer Técnico relativo à biossegurança do milho geneticamente modificado, designado “Milho 5307” e do “Milho Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21”, considerados pelo representante legal da instituição como NB-1 para efeito de sua liberação no meio ambiente, cultivo, produção, manipulação, transferência, transporte, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo e descarte destes OGMs e derivados, bem como suas progênies, para fins comerciais. O milho 5307 expressa a proteína inseticida eCry3.1Ab e o milho Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21 foi desenvolvido por meio de cruzamento sexual. Os eventos individuais BT11, MIR162, TC1507, MIR604 e GA21 estão aprovados para liberação comercial, bem como suas formas combinadas Bt11xGA21, Bt11xMIR162xGA21 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21. A instituição afirma dispor de infraestrutura adequada e pessoal técnico competente para o desenvolvimento com segurança das atividades propostas, tendo sido encaminhada à CTNBio a documentação indicativa à essa solicitação.

1. Informações Gerais:

A empresa Syngenta solicita a liberação no meio ambiente, cultivo, produção, manipulação, transferência, transporte, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo e descarte de OGM e seus derivados, bem como suas linhagens ou cultivares derivadas deste, para fins comerciais do milho (*Zea mays*) geneticamente modificado resistente a insetos e tolerante a herbicida, designados respectivamente “Milho 5307” e “Milho Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21”. A presente proposta trata sobre a modificação genética de milho para a inserção de uma quimera derivada das proteínas Cry1Ab e Cry3A denominada eCry3.1Ab. Testes em laboratório com organismos não alvo de representação foram realizados para testar a hipótese de efeitos ecológicos adversos do cultivo do Milho 5307. As estimativas das concentrações eCry3.1Ab ambientais para cada NTO foram calculadas a partir das concentrações de eCry3.1Ab produzidos por Milho 5307 nos tecidos vegetais relevantes. Organismos não-alvo foram expostos a dietas contendo eCry3.1Ab ou dietas que compreendem Milho 5307 tecido e avaliados para efeitos em comparação com grupos de controle. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na sobrevivência entre o grupo controle e o grupo exposto ao eCry3.1Ab em qualquer organismo testado. Concentrações eCry3.1Ab medidas nos estudos laboratoriais foram iguais ou maiores do que as estimativas mais conservadoras de exposição ambiental. Os estudos de laboratório corroboram a hipótese de risco ecológico insignificante a partir do cultivo de milho 5307.

2. Descrição do OGM:

O “milho 5307” expressa a proteína inseticida eCry3.1Ab, que protege a planta dos danos causados pela *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae), considerada uma das principais pragas iniciais da cultura do milho. Esta variedade foi produzida por meio de transformação via *Agrobacterium tumefaciens* de embriões imaturos de milho, utilizando plasmídeo contendo o gene eCry3.1Ab que codifica a proteína eCry3.1Ab, uma proteína quimérica derivada do *Bacillus thuringiensis* e composta pelas proteínas Cry1Ab e Cry3A

modificada. A proteína eCry3.1Ab foi alterada através da troca das regiões variáveis (V1 a V6) entre o mCry3A e as proteínas de Cry1Ab para aprimorar o efeito contra certas espécies de coleóptero praga da cultura do milho. A proteína eCry3.1Ab consiste numa fusão entre o N-terminal (Domínio I, o Domínio II e uma porção do Domínio III), de mCry3A e o C-terminal (uma porção do Domínio III e região variável 6) de Cry1Ab. A proteína eCry3.1Ab contém 654 aminoácidos e peso molecular aproximado de 73,7 Kd. A troca na região variável do gene resultou em elevada bioatividade da proteína inseticida híbrida contra larvas de *Diabrotica sp.*^{1, 6} Como marcador da seleção durante o processo de transformação esta variedade possui ainda o gene *pmi* (Phosphomannose Isomerase - E. coli manA) de *Escherichia coli*, codificador da Fosfomanose Isomerase sob a regulação do promotor do gene da ubiquitina de *Zea mays* e do terminador NOS de *A. tumefaciens*.

O milho Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21, por sua vez, foi desenvolvido por meio de melhoramento genético clássico, utilizando cruzamento sexual entre estas variedades (Bt11, MIR162, MIR604, TC1507, 5307 e GA21) e as variedades Bt11xGA21, Bt11xMIR162xGA21 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21, também já aprovadas pela CTNBio. O evento Bt11, aprovado em reunião da CTNBio de 20/09/2007 incluí o gene *cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis*, que confere resistência a certos insetos lepidópteros, e o gene *pat*, derivado do microrganismo do solo *Streptomyces viridochromogenes*, que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônia e foi utilizado como marcador de seleção durante o processo de transformação.

O evento MIR162, aprovado em reunião da CTNBio de 17/09/2009, foi obtido a partir da inserção do gene *vip3Aa20*, que confere resistência a insetos lepidópteros, e do gene *pmi* (*manA*) que codifica a enzima Fosfomanose Isomerase (PMI), utilizado como marcador de seleção no processo de transformação.

O evento MIR604 contém o gene modificado *cry3A* (*mcry3A*), que codifica a proteína inseticida mCry3A, e o gene *pmi* (*manA*), que codifica a enzima Fosfomanose Isomerase (PMI), utilizada como marcador de seleção no processo de transformação.

O evento TC1507 é de propriedade da Dow Agrosience LTDA. e as informações detalhadas do referido evento foram disponibilizadas à CTNBio na ocasião da solicitação da liberação

comercial. As informações apresentadas neste dossiê foram autorizadas pela detentora do evento, conforme consta na carta de acesso apresentada à CTNBio.

O evento 5307, conforme citado anteriormente, contém o gene eCry3.1Ab que codifica a proteína eCry3.1Ab e o gene marcador de seleção *pmi* (*manA*) que codifica a enzima Fosfomanose Isomerase (PMI). A proteína eCry3.1Ab, ativa contra coleópteros, foi gerada após uma troca na região variável de uma proteína ativa contra lepidópteros de *Bacillus thuringiensis*, Cry1Ab, com uma região Cry3A.

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

3. Biossegurança do Produto:

A avaliação da segurança humana e animal quanto ao consumo do “milho 5307” foi realizada e determinou que a variedade modificada é tão segura quanto o milho convencional e que as proteínas transgênicas expressas não apresentam toxicidade sendo improváveis de serem alergênicas. A expressão gênica das proteínas eCry3.1Ab e PMI no grão, a parte mais provável de entrar na cadeia alimentar humana e animal, a exposição dietética potencial aos humanos da proteína eCry3.1Ab seria de aproximadamente 0,008% da proteína total e da proteína PMI seria 0,005% da proteína total, portanto a exposição dietética potencial destas proteínas pode ser considerada mínima.²

A avaliação de potencialidade alergênico das proteínas eCry3.1Ab e PMI tanto pela abordagem de peso-da-evidência como pela similaridade de sequência de aminoácidos de proteínas alergênicas putativas ou com potencial conhecido não demonstrou semelhanças. Estas proteínas transgênicas sofreram degradação rápida em fluido gástrico simulado de mamíferos sendo inativadas/desnaturadas com a exposição ao calor e, portanto, consideradas improváveis de serem alimentos causadores de alergia. O estudo de alimentação realizado com aves confirmou a ausência de efeitos adversos em frangos de corte que consumiram

dietas preparadas com grãos de “milho 5307” quando comparados com aves que consumiram dietas preparadas com grãos de milho controle.^{3,4,5}

Os eventos BT11, MIR162, TC1507, GA21 a MIR604 e já foram aprovados para liberação comercial pela CTNBio, tanto de forma individual como também em suas formas combinadas Bt11xGA21, Bt11xMIR162xGA21 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21 e possuem informações suficientes que comprovam a sua biossegurança para o ambiente e para a saúde humana e animal.

Não foram assim observados efeitos adversos estatisticamente significativos após a exposição a eCry3.1Ab para a maioria dos organismos testados no trabalho seminal dos autores. A falta geral de efeitos adversos em estudos em que organismos indicadores representativos foram expostas a concentrações de eCry3.1Ab em excesso corrobora a hipótese de a exposição segura a eCry3.1Ab. Assim, os riscos ecológicos de cultivo de milho 5307 são negligenciáveis, de acordo com as metodologias empregadas.

4. Segurança Ambiental:

Os aspectos relativos à segurança ambiental da liberação comercial do milho geneticamente modificado, designado “Milho 5307” e do “Milho Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21” serão analisados em profundidade pela Setorial da Área Vegetal & Área Ambiental. Entretanto, a literatura científica² sobre a segurança sanitária e ambiental deste produto atesta não existirem riscos observáveis na introdução destas culturas. A falta geral de efeitos adversos em estudos em que organismos indicadores representativos foram expostos a concentrações de eCry3.1Ab superiores a estimativas muito conservadoras de exposição potencial corrobora a hipótese de que a exposição a eCry3.1Ab via cultivo de milho 5307 terá pouco ou nenhum efeito adverso sobre organismos que não são alvo desta proteína, e não apenas os organismos de controle biológico. Assim, os riscos ecológicos de cultivo de milho 5307 são insignificantes, segundo a autora. Estudos similares conduzidos anteriormente para proteínas similares e condições análogas chegaram às mesmas conclusões^{7,8,9}.

5. Parecer Final da CTNBio:

Relatoria: Dr. Carlos Gonzaga de Almeida / Dra. Clarice Weis Arns Assessoria: Allan Edver
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
e-mail: secretariactnbio@mct.gov.br

PRÓTON: _____/_____

Com base nas evidências da literatura científica atual disponível para as proteínas Cry1Ab e mEPSPS e das evidências apresentadas sobre a ausência de interação entre os genes expressos para resistência a insetos no milho Bt11xMIR162xGA21, consideramos que o mesmo é tão seguro quanto seus equivalentes convencionais em relação a sua segurança alimentar e ambiental. Avaliações agronômicas e de eficácia realizadas no milho Bt11xMIR162xGA21, não indicaram nenhum padrão consistente que sugerisse mudanças biologicamente significativas, decorrente da combinação destes eventos, diferentes daquelas esperadas, ou seja, resistência a insetos e tolerância a herbicida combinadas. O conjunto de evidências obtidas nos resultados da análise molecular comparativa, da análise do padrão de herança genética e da análise comparativa de níveis de expressão das proteínas Cry1Ab, Vip3Aa20 e mEPSPS no milho Bt11xMIR162xGA2, indicam que os níveis de exposição para organismos não-alvo e na alimentação humana e animal a estas proteínas serão os mesmos que para o milho Bt11, milho MIR162 ou milho GA21, isoladamente. Além disso, os resultados da avaliação da influência do milho Bt11xMIR162xGA21 sobre a comunidade de insetos não indicaram a existência de efeitos adversos nestes organismos não-alvo.

Face ao exposto, nosso parecer é pelo deferimento da liberação comercial do milho designado “Milho 5307” e do “Milho Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21”.

6. Bibliografia:

1. BRAVO A, GILL SS & SOBERÓN M. (2007) Mode of action of Bacillus thuringiensis Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*. 49: 423-435
2. BURNS A, RAYBOULD A (2014) Nontarget organism effects tests on eCry3.1Ab and their application to the ecological risk assessment for cultivation of Event 5307 maize. *Transgenic Res*. 2014 Jan. 10.
3. AESCHBACHER, K.; MESSIKOMMER, R.; MEILE, L.; WENK, C. 2005. Bt176 corn in poultry nutrition: physiological characteristics and fate of recombinant plant DNA in chickens. *Poultry Sci*. 84: 385-394.

4. ASTWOOD, J.; LEACH, J. N.; FUCHS, R. L. 1996. Stability of food allergens to digestion in vitro. *Nat. Biotech.* 14: 1269-1273.
5. BRAKE, J.; FAUST, M. A.; STEIN, J. 2003. Evaluation of transgenic event Bt11 hybrid corn in broiler chickens. *Poult. Sci.* 82:551-559.
6. BRODERICK, N.A.; RAFFA, K.F.; HANDELSMAN, J. 2006. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 15196-15199.
7. ROMEIS J, MEISSLE M, BIGLER F (2006) Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nat Biotechnol* 24:63–71
8. MARVIER M, MCCREEDY C, REGETZ J, KAREIVA P (2007) A metaanalysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. *Science* 316:1475–1477
9. DUAN JJ, LUNDGREN JG, NARANJO S, MARVIER M (2010) Extrapolating non-target risk of Bt crops from laboratory to field. *Biol Lett* 6:74–77

DR. CARLOS GONZAGA DE ALMEIDA / DRA. CLARICE WEIS ARNS
Membros da CTNBio

De acordo,

DR. EDIVALDO DOMINGUES VELINI
Presidente da CTNBio

Assessor Técnico da CTNBio: ALLAN EDVER MELLO DOS SANTOS