



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

O Relator declara ter incluído Informação Confidencial no corpo deste Parecer?

SIM

NÃO

PARECER RELATOR

Processo nº: 01250.009573/2016-95

Data de Protocolo: 20/12/2016

SEI: 1574447/16 (ostensivo)

Requerente: Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda.

CQB 107/99

Título da proposta: Liberação comercial do milho MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9

Descrição do OGM: milho MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9

Resolução Normativa: RN 5

Finalidade (objetivo): cultivo comercial, assim como para o seu consumo e de seus derivados.

PARECER TÉCNICO

I. Identificação do OGM

Designação do OGM: MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9

Requerente: Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda

Espécie: *Zea mays* L.

Característica(s) inserida(s):

Genes: *cry1A.105* e *cry2Ab2*, que codificam as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, respectivamente, as quais conferem resistência a lepidópteros praga da parte aérea da planta;

Gene *cry1F*, que codifica a proteína Cry1F, que confere resistência a lepidópteros praga;

Gene *pat*, que codifica a proteína PAT (fosfinotricina acililtransferase), isolado de *Streptomyces viridochromogenes*, que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio (usado como marcador de seleção);

Gene *vip3Aa20* que codifica a proteína VIP3Aa20 a qual promove resistência a *Diatraea saccharalis* e determinados insetos praga da ordem Lepidoptera;

Gene *pmi* que codifica a proteína PMI, usado na seleção das plantas transformadas através da interconversão de manose-6-fosfato/frutose-6-fosfato;

Gene *cp4 epsps*, que codifica a proteína CP4 EPSPS, a qual confere tolerância ao herbicida glifosato;

Gene *aad-1*, que codifica a proteína AAD-1, que confere tolerância aos herbicidas 2,4-D e haloxifope-R. *Aad-1* é um gene sintético, versão otimizada para expressar em planta a enzima ariloxialcanoato dioxigenase (AAD-1), originária do microrganismo *Sphingobium herbicidovorans*.

Método de introdução da(s) característica(s):



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

O milho MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 foi desenvolvido por melhoramento genético clássico, sendo resultado do cruzamento entre o milho MON 89034, milho TC1507, milho MIR162, milho NK603 e milho DAS-40278-9, todos aprovados para liberação comercial pela CTNBio.

O milho MON89034 foi aprovado comercialmente pela CTNBio em 15/10/2009 e na Argentina, Austrália, Canadá, Colômbia, Coreia, Estados Unidos, Filipinas, Japão, Taiwan e União Europeia. Expressa os genes *cry1A.105* e *cry2Ab2* cujo evento apresenta resistência a insetos da ordem Lepidoptera em milho.

O milho TC1507 teve parecer Técnico para liberação comercial em 11/12/2008 e África do Sul, Argentina, Austrália, Brasil, Canadá, China, Colômbia, Coreia, El Salvador, Estados Unidos, Filipinas, Honduras, Japão, Malásia, México, Paraguai, Singapura, Suíça, Taiwan, União Europeia e Uruguai. Expressa o gene *cry1F* cujo evento apresenta a característica de resistência à insetos da ordem Lepidoptera (milho Bt Cry1F – Evento TC1507).

O milho MIR162 teve parecer técnico para liberação comercial em 17/09/2009 pela CTNBio e foi aprovado também n Argentina, Austrália, Brasil, Canadá, Colômbia, Coréia, Estados Unidos, Filipinas, Japão, Malásia, México, Nova Zelândia, Paraguai, Rússia, Taiwan, Turquia, União Europeia e Vietnã. Expressa os genes *vip3Aa20* e *pmi* que confere resistência a insetos, enquanto o gene *pmi* foi utilizado como marcador seletivo.

O milho NK603 teve parecer Técnico para liberação comercial em 18/09/2008 pela CTNBio e já foi liberado na África do Sul, Argentina, Austrália, Canadá, China, Colômbia, Coréia, El Salvador, Estados Unidos, Filipinas, Japão, México, Rússia, Taiwan, União Europeia e Uruguai . Expressa o gene *cp4 epsps* que resulta na característica de tolerância ao glifosato, milho *Roundup Ready 2* Evento NK603.

O milho DAS-40278-9 teve parecer técnico para liberação comercial em 05/03/2015 pela CTNBio e foi aprovado na África do Sul, Austrália, Canadá, Colômbia, Coreia do Sul, Estados Unidos, Japão, México, Nova Zelândia e Taiwan. Expressa o gene *aad-1* introduzindo a característica de conferir tolerância ao herbicida 2,4-D (ácido 2,4- diclorofenoxiacético) e a determinados herbicidas inibidores da acetil coenzima A carboxilase (ACCCase) ariloxifenoxipropionato (AOPP).

Conforme apresentado pela requerente, a caracterização molecular do milho MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 pela análise de Southern blot futilizando sondas específicas para os genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *cry1F*, *pat*, *vip3Aa20*, *pmi*, *cp4 epsps* e *aad-1*. Apresentou que todos os padrões de hibridação gerados por cada sonda foram idênticos aos dos eventos individuais correspondentes. Os resultados indicam que as estruturas dos genes, oriundos dos eventos individuais, não foram afetados pela combinação por melhoramento clássico.

A expressão das proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT, VIP3Aa20, PMI, CP4-EPSPS e AAD-1 foi realizada em experimentos nas localidades de Rio Verde (GO), Indianópolis (MG) e Palotina (PR). Nos ensaios foram utilizados um híbrido de milho controle convencional (Iso-híbrido), dois milhos geneticamente modificados sob regulamentação, MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 e MON 89034 x TC1507 x NK603 x DAS-40278-9, além de um híbrido controle comercial MIR162. Foram analisadas, folhas, raiz, pólen, forragem, planta inteira e grãos. A média de expressão entre locais (análise combinada) para a proteína Cry1A.105 variou entre 0,70 ng/mg (PS) em grão estádio R6 e 39,79 ng/mg (PS) em folha estádio V9; para Cry2Ab2 variou entre 1,15 ng/mg PS em pólen estádio

2



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

R1 a 312,82 ng/mg PS em tecido de folha no estádio V9; para Cry1F variou entre 2,94 ng/mg PS em planta inteira no estádio R6 a 26,63 ng/mg PS em tecido de pólen no estádio R1; para Vip3Aa20 variou de 21,29 ng/mg (PS) em planta inteira no estádio R6 a 116,43 ng/mg PS em tecido de folha no estádio R1; para PAT variou de não detectável (ND), sendo as médias consideradas como NA (Não aplicável) em matrizes como pólen R1, grão e planta inteira no estádio R6 a 4,79 ng/mg PS em tecido de folha no estádio R1; para PMI variou de 1,12 ng/mg PS em planta inteira no estádio R6 a 8,69 ng/mg PS em tecido de folha no estádio V2-V4; para CP4 EPSPS variou de 12,01 ng/mg PS em planta inteira no estádio R6 a 348,92 ng/mg PS em tecido de pólen no estádio R1; As amostras controle foram negativas para a maioria dos tecidos testados para as proteínas analisadas.

A requerente demonstrou nos ensaios estabilidade genotípica e fenotípica para cada um dos cinco eventos singulares (MON 89034, TC1507, MIR162, NK603 e DAS-40278-9), e o fato dos genes exógenos introduzidos apresentarem segregação mendeliana, permite a conclusão de que os genes exógenos inseridos no genoma de milho atuam como se fossem genes naturais da espécie. Como o milho MON 89034 × TC1507 × MIR162 × NK603 × DAS-40278-9 foi obtido por melhoramento genético clássico, pode-se inferir que os descendentes e as futuras gerações do milho MON 89034 × TC1507 × MIR162 × NK603 × DAS-40278-9 apresentarão também segregação mendeliana dos genes inseridos nos eventos singulares, assim como deverão mostrar estabilidade fenotípica e genotípica.

As informações apresentadas no documento apresentado pela requerente demonstram que o milho em análise é equivalente ao milho convencional em todas as suas características fenotípicas, agrônomicas, reprodutivas e nutricionais. Não são espécies invasivas em ecossistemas naturais e não apresentam tendência a proliferar-se como planta daninha. Entretanto, apresenta diferença representada pelas características específicas aportadas pelos genes inseridos.

Dessa forma o milho MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 expressa as características resultantes da combinação dos eventos apresentando seletividade aos herbicidas, glifosato, glufosinato de amônio e 2,4-D permitindo, assim, o controle de plantas daninhas sem causar injúrias à cultura. A múltipla seletividade aos herbicidas irá ampliar, para o agricultor, as alternativas de manejo de plantas daninhas, quando poderá escolher o produto a ser usado de acordo com o espectro de invasoras, nível de infestação e permitirá que possa alternar pelo modo de ação dos herbicidas, que reduz a seleção de biótipos resistentes. Além de apresentar resistência a insetos Lepidópteros pela expressão dos genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *Cry1F* e *vip3Aa20*.

Uso proposto: O milho MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 foi desenvolvido com o objetivo de fornecer ao agricultor uma alternativa simples, eficiente e ambientalmente favorável para o controle de importantes lepidópteros pragas que infestam a cultura do milho e de fornecer ao agricultor uma maior flexibilidade na escolha de herbicidas para o controle de plantas daninhas que infestam a cultura do milho. A adoção desta tecnologia trará benefícios potenciais como a diminuição do uso de inseticidas para o controle de alguns insetos praga da cultura do milho.

II – Informações Gerais

Foram submetidos 22 LPMAs, sendo que 05 foram canceladas, 02 estão em andamento, 02 estão em pauta e outras 13 ainda não foram pautadas. Entretanto um resumo dos relatórios de conclusão foram disponibilizados. As LPMAs tiveram como objetivo análises de caracterização molecular, morfológicas e

3



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

bioquímicas, avaliações de praticabilidade e desempenho agrônômicos e de biossegurança, eficiência no controle de insetos e tolerância a herbicidas, avaliação comparativa à composição química do milho GM e do milho convencional, análise de expressão de proteínas pelos genes inserido no milho GM, avaliação da velocidade de decomposição dos restos culturais, avaliação das características químicas e físicas do solo cultivado com milho GM e convencional.

III - Aspectos relacionados à saúde humana e dos animais

(SERÁ ANEXADO O PARECER DA SETORIAL ANIMAL E HUMANA)

IV - Aspectos Ambientais

Efeito em organismos indicadores (simbiontes, predadores, polinizadores, parasitas ou competidores do milho): O milho MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 não codifica proteínas com outros efeitos (nematicida, fungicida, bactericida, etc.). As proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT, AAD-1, CP4 EPSPS presentes neste evento não têm semelhanças significativas nas sequências de aminoácidos com as de toxinas conhecidas.

O cultivo do milho GM em análise, de posse de sua liberação comercial, obedecerá a Resolução Normativa no 4 da CTNBio, aprovada em 16 de Agosto de 2007 e publicada no D.O.U. em 23/08/2007, que dispõe sobre as distâncias mínimas entre cultivos comerciais de milho geneticamente modificado e não geneticamente modificado, visando à coexistência entre os sistemas de produção.

A possibilidade de cruzamento do milho GM com espécies sexualmente compatíveis seria considerado inexistente, desde que no Brasil, não se observa a ocorrência natural de espécies de teosinte, existindo apenas espécies do gênero *Tripsacum*, parente mais distante do milho. O cruzamento natural entre o milho e *Tripsacum* é muito raro de ocorrer e, se viável, produz frequentemente descendentes estéreis. Assim, considerando as características fenotípica, os parâmetros de crescimento e os dados da literatura sobre fluxo gênico e introgressão de genes, não se evidencia nenhuma característica que poderia tornar o milho GM mais invasivo que as linhagens convencionais.

Sementes remanescentes da colheita introduzidas no solo com a operação de máquinas agrícolas podem germinar na safra seguinte, caso as condições de temperatura e umidade do solo sejam favoráveis. Entretanto, as plantas voluntárias (tigueras) deste milho GM, assim como as do milho convencional, deverão ser eliminadas através de métodos manuais (capinas, arranquio, etc.), mecânicos (roçadas, trituração, incorporação, etc.) ou métodos químicos (herbicidas). A única diferença é que as plantas voluntárias do milho GM deverão ser controladas com herbicidas com ingrediente ativo diferente do glufosinato de amônio, 2,4-D ou do glifosato, se o agricultor decidir pelo controle químico das tiguerras.

Estudos de avaliação de impacto do milho GM sobre artrópodes não alvos foram realizados em Cravinhos-SP, Indianópolis-MG, Montividiu-GO, Palotina-PR no ano de 2013 em 18 espécies de insetos. Não houve efeito negativo nos grupos funcionais em nenhum dos tratamentos, quando comparado aos iso-híbridos

Os atributos físicos e químicos do solo, a maioria dos parâmetros avaliados para determinação do estado



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

nutricional das plantas entre tratamentos foi semelhante, como por exemplo para os elementos: ferro, zinco, fósforo, cálcio, enxofre, entre outros. As diferenças observadas entre tratamentos são pontuais e podem ser atribuídas a uma combinação complexa de fatores, como por exemplo: composição do solo, variação desta composição dentro da mesma localidade (disponibilidade de nutrientes), entre outros. Assim, conclui-se que o milho GM não causa impactos nas características químico-físicas do solo, comportando-se como milho controle convencional.

VII – Conclusão

Considerando que o milho MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 pertence a espécie bem caracterizada e com sólido histórico de segurança para o consumo humano;

Considerando que as proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, VIP3Aa20, que conferem resistência a insetos e as proteínas PAT, CP4 EPSPS, AAD-1 que conferem tolerância a herbicidas, além da proteína PMI utilizada como marcador seletivo, são expressas em vários eventos de diferentes culturas agrícolas já submetidas à avaliação de risco e aprovadas para uso comercial em diversos países;

Considerando que a construção deste evento ocorreu por melhoramento genético clássico e que a caracterização molecular, a análise da expressão das proteínas, a análise composicional e as avaliações agrônomicas e fenotípicas não demonstram evidências de haver qualquer interação entre os insertos presentes no evento combinado;

Sou favorável à solicitação da empresa Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda. CQB 107/99 para a liberação comercial do milho geneticamente modificado evento combinado MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 por considerar que atende as normas da Resolução Normativa no. 05/2008 as quais visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal e assim, indico o **Deferimento** da solicitação.

A análise da CTNBio considerou os pareceres emitidos pelos membros da Comissão; por consultores *Ad Hoc*; documentos aportados na Secretaria Executiva da CTNBio pela requerente; resultados de liberações planejadas no meio ambiente; palestras, textos relacionados. Foram também considerados e consultados estudos e publicações científicas independentes da requerente e realizados por terceiros.

Monitoramento

O plano de monitoramento pós-liberação comercial será submetido em até 30 (trinta) dias, contados a partir da publicação do deferimento do pedido de liberação comercial do milho MON 89034 x TC1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, conforme o Artigo 3º da Resolução Normativa nº 9, de 2 de dezembro de 2011

VIII- Referências Bibliográficas



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

BURKNESS EC, DIVELY G, PATTON T, MOREY AC, HUTCHISON WD. Novel Vip3A *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize approaches high-dose efficacy against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) under field conditions: Implications for resistance management. *GM Crops*. 2010 Nov-Dec;1(5):337-43. doi: 10.4161/gmcr.1.5.14765.

DE CERQUEIRA DTR, SCHAFER AC, FAST BJ, HERMAN RA. Agronomic performance of insect-protected and herbicide-tolerant MON 89034 × TC1507 × NK603 × DAS-40278-9 corn is equivalent to that of conventional corn. *GM Crops Food*. 2017 Jul 3;8(3):149-155. doi: 10.1080/21645698.2017.1301331.

De SCHRIJVER A, DEVOS Y, Van de BULCKE M, CADOT P, De LOOSE M, REHEUL D, SNEYERS M. Risk assessment of GM stacked events obtained from crosses between GM events. *Trends in Food Science & Technology*, v.18, p.101-109, 2007.

EFSA. European Food Safety Authority. Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events, the *EFSA Journal* (2007) 512, 1-5.

Genetically Engineered Crops. Experiences and Prospects (2016). The National Academy of Sciences-Engineering-Medicine Report <https://www.nap.edu/read/23395>

HERMAN RA, PHILLIPS AM, LEPPING MD, FAST BJ, SABBATINI J. Compositional safety of event DAS-40278-9 (AAD-1) herbicide-tolerant maize. *GM Crops*. 2010 Nov-Dec;1(5):294-311. doi: 10.4161/gmcr.1.5.14285.

KRAMER C, BRUNE P, MCDONALD J, NESBITT M, SAUVE A, STORCK-WEYHERMUELLER S. Evolution of risk assessment strategies for food and feed uses of stacked GM events. *Plant Biotechnol J*. (2016) Sep;14(9):1899-913. doi: 10.1111/pbi.12551.

Royal Society of London; National Academy of Sciences (US); Brazilian Academy of Sciences; Chinese Academy of Sciences; Indian National Science Academy; Mexican Academy of Sciences; Third World Academy of Sciences. *Transgenic Plants and World Agriculture*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2000. TRANSGENIC PLANTS AND HUMAN HEALTH AND SAFETY. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK225730/>

YU X, LUO Q, HUANG K, YANG G, HE G. *Front Plant Sci*. 2018; 9:326. Epub 2018 Mar 15. Prospecting for Microelement Function and Biosafety Assessment of Transgenic Cereal Plants.

ZOU S, LANG T, LIU X, HUANG K, HE X. Safety evaluation of genetically modified DAS-40278-9 maize in a subchronic rodent feeding study. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2018 Jul;96:146-152. doi: 10.1016/j.yrtph.2018.05.010. Epub 2018 May 17.

Brasília, 27 de julho de 2018.



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

Dr(a). Helaine Carrer
Membro da CTNBio