

PARECER TÉCNICO - Setorial Saúde Humana

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

<input type="checkbox"/>	SIM
<input checked="" type="checkbox"/>	NÃO

Processo: 01250.057492/2018-63

Requerente: Dow Agrosiences Industrial Ltda.

CQB: 107/99

Assunto: Liberação comercial de algodão geneticamente modificado

Extrato Prévio: 6237/18

Reunião: _____^a Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em

Decisão: DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação do processo do 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: Solicita à CTNBio autorização para liberação comercial do milho geneticamente modificado tolerante a herbicida e resistente a insetos, milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9, para as finalidades de manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo e descarte, e de seus derivados para fins comerciais.

Informações Gerais:

O milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9 foi desenvolvido por melhoramento genético clássico, sendo resultado do cruzamento clássico entre os milhos MON-87427-7, MON-89034-3, DAS-01507-1, MON-87411-9, DAS-59122-7 e DAS-40278-9, todos aprovados, individualmente, para liberação comercial pela CTNBio.

O milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9 contém proteínas com diferentes modos de ação para controle de importantes insetos-praga do milho, visando maior eficácia de controle e maior estabilidade e longevidade da tecnologia Bt no mercado.

Este milho não difere do milho convencional, exceto pela presença e expressão dos genes *pat*, *cp4 epsps* e *aad-1*, que conferem tolerância aos herbicidas glufosinato de amônio (*pat*), glifosato (*cp4 epsps*), 2,4-D e haloxifop-R (*aad-1*), e dos genes *cry1A105*, *cry2Ab2*, *cry1F*, *cry3Bb1*, *cry34Ab1* e *cry35Ab1*, que conferem resistência a determinados insetos praga do milho.

Semelhante ao milho convencional, não exhibe tendência a proliferar-se como erva daninha e não é invasivo em ecossistemas naturais. Nenhuma vantagem competitiva será proporcionada pelos genes *cry1A105*, *cry2Ab2*, *cry1F*, *cry3Bb1*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *pat*, *cp4 epsps* e *aad-1*, quando comparado ao milho convencional.

As características da planta geneticamente modificada, as informações coletadas durante os testes nos campos da região de cultivo e as análises laboratoriais apresentadas neste documento (Anexos II e III) comprovam que o consumo do milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9 é tão seguro à saúde humana e animal, e ao meio ambiente quanto o milho convencional.

Descrição do OGM:

O milho **MON-87427-7** possui o gene cp4 epsps que codifica a proteína CP4 EPSPS, a qual promove tolerância ao herbicida glifosato.

O milho **MON-89034-3** possui os genes cry1A.105 e cry2Ab2 que codificam, respectivamente, as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, as quais promovem resistência a determinados insetos praga da ordem Lepidoptera.

O milho **DAS-01507-1** possui os genes cry1F e pat codificando, respectivamente, as proteínas Cry1F e PAT, as quais promovem resistência a determinados insetos praga da ordem Lepidoptera e tolerância ao herbicida glufosinato de amônio, respectivamente.

O milho **MON-87411-9** possui os genes cp4 epsps e cry3Bb1 que codificam, respectivamente, as proteínas CP4 EPSPS e Cry3Bb1, as quais promovem tolerância ao herbicida glifosato e resistência a determinados insetos praga da ordem Coleoptera, respectivamente. Além disso, possui uma sequência codificadora de RNA dupla fita contendo um fragmento do gene DvSnf7 que promove resistência à Diabrotica virgifera.

O milho **DAS-59122-7** possui os genes cry34Ab1, cry35Ab1 e pat que codificam, respectivamente, as proteínas Cry34Ab1 e Cry35Ab1, as quais promovem resistência a determinados insetos praga da ordem Coleoptera, e a proteína PAT, a qual promove tolerância ao herbicida glufosinato de amônio.

O milho **DAS-40278-9** possui o gene aad-1, que codifica a proteína AAD-1, a qual confere tolerância ao herbicida 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxiacético) e a herbicidas do grupo dos ariloxifenoxipropionatos (AOPPs).

Classificação do organismo a ser liberado

Reino: Plantae.

Divisão: Magnoliophyta.

Classe: Liliopsida.

Ordem: Poales.

Família: Poaceae.

Subfamília: Panicoideae.

Tribo: Andropogoneae.

Gênero: Zea.

Espécie: *Zea mays* L.

Genes introduzidos

- 1- O gene cp4 epsps - *Agrobacterium* sp. cepa CP4- A enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS: EC2.5.1.19) promove a tolerância ao herbicida glifosato;
- 2- Os genes cry1A.105 e cry2Ab2 da bactéria *B. thuringiensis* (Bt), codificam as proteínas inseticidas Cry1A.105 e Cry2Ab2, sendo altamente específicas quanto à sua toxicidade para certos insetos lepidópteros, coleópteros ou dípteros
- 3- O gene cry1F, presente no milho DAS-01507-1, codifica a proteína Cry1F, proveniente do microrganismo de solo *Bacillus thuringiensis* que tem ação específica contra certos insetos praga da ordem Lepidoptera.
- 4- Os genes cry34Ab1 e cry35Ab1 codificam as proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, respectivamente, e são provenientes do microrganismo de solo *Bacillus thuringiensis*. As proteínas Cry34Ab1 e Cry35Ab1 são específicas para a defesa das plantas contra determinados insetos praga da ordem Coleoptera que atacam a raiz do milho.
- 5- O gene pat codifica a enzima fosfinotricina acetiltransferase (PAT), isolada do microrganismo não patogênico *Streptomyces viridochromogenes*. Esta enzima garante à planta a tolerância ao herbicida glufosinato de amônio.
- 6- os genes cp4 epsps e cry3Bb1 e a sequência codificadora do RNA dupla fita contendo um fragmento do gene DvSnJ7;
- 7- O gene aad-1 é originário do microrganismo *Sphingobium herbicidovorans* e codifica a proteína AAD-1, que é uma enzima ariloxialcanoato dioxigenase, a qual confere tolerância ao herbicida 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxiacético) e herbicida do grupo dos ariloxifenoxipropionatos (AOPPs).

A expressão das proteínas correspondentes aos genes inseridos foi avaliada por SDS-PAGE e Western blotting.

Individualmente, os milhos MON-87427-7, MON-89034-3, DAS-01507-1, MON-87411-9, DAS-59122-7, DAS-40278-9, já foram aprovados para cultivo, alimentação humana e animal em diversos países

Biossegurança do Produto:

1. Histórico de uso na alimentação, no Brasil e em outros países do

organismo parental ou doador, o nível de consumo, o processamento anterior ao consumo e as espécies animais que se alimentam destes organismos.

O milho é uma das espécies cultivadas mais importantes para a sobrevivência do homem, e com certeza o mais importante cereal na indústria de alimentos. Originário do México e da Guatemala, o milho se difundiu em todos os continentes e é hoje produzido na maioria dos países do mundo. Pelo seu valor nutricional e pela sua importância para a alimentação humana, foi desde cedo o alimento principal de civilizações mesoamericanas, notadamente Astecas, Maias e Incas.

Cerca de 71% da produção de milho é destinada à alimentação de aves e de suínos, 15% consumido pela indústria e 14% é exportado. O Brasil somente recentemente iniciou a exportação de milho apesar de seu enorme potencial para produzir o cereal, principalmente em rotação de cultura como a soja e outras espécies anuais.

O milho possui uma longa história de cultivo e é uma das plantas melhor caracterizadas geneticamente entre as plantas superiores. Têm sido realizados, ao longo de um século, estudos citológicos e citogenéticos em etapas chave da meiose, bem como trabalhos de morfologia e histologia. O milho tem sofrido modificações contínuas por parte dos melhoristas em várias regiões do globo onde pode ser cultivado, com o propósito de se obter maior produtividade e melhor qualidade do produto

2. Possíveis efeitos na cadeia alimentar humana e animal pela ingestão de OGM e seus derivados

As proteínas CP4 EPSPS, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT, Cry3Bb1, Cry34Ab1, Cry35Ab1 e AAD-1, além do dsRNA DvSnJ7, foram testados em estudo de toxicidade aguda oral em ratos para se avaliar a toxicidade potencial para seres humanos e animais. Considerando os valores de proteínas expressas de cada gene, os resultados mostraram que uma criança deveria consumir 757 kg, ou um adulto 1.516.659 kg de grãos de milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, por dia, para coincidir com o consumo definido como nível sem efeito adversos observado (NOAEL) das proteínas.

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.

Resultados da análise composicional do grão e forragem do milho MON-87427-7 x MON 89034- 3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, incluindo análise centesimal, fibras, minerais, aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas, anti-nutrientes e metabólitos secundários, foram todos estatisticamente indistinguíveis dos resultados do Iso-híbrido, e com valores dentro do intervalo de valores dos híbridos não transgênicos usados como referência e dos valores reportados na literatura. Os dados demonstram equivalência composicional entre o milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 e o milho não transgênico convencional.

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 de 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.

O objetivo deste estudo foi comparar o desenvolvimento e a saúde de frangos de corte alimentados com dieta preparada com farinha de milho do evento MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, com a dieta de farinhas do milho não geneticamente modificado (Iso-híbrido), e com dietas preparadas de farinhas de três híbridos de milho comercial, por um período de 6 semanas. As dietas foram preparadas usando cada tipo de farinha de milho, com taxa de inclusão de aproximadamente 52% na fase Inicial, 55% na fase de Engorda e 58% no Acabamento.

Resultado: O impacto do milho MON-87427-7 x MON 89034- 3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 no desenvolvimento e na saúde de frangos de corte foi avaliado por meio da análise comparativa do milho transgênico e seu Iso-híbrido convencional, em um estudo de alimentação de aves de corte com dietas preparadas com farinhas de dois tipos de milho, MON-87427-7 x MON 89034- 3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 e seu Iso-híbrido convencional. Nesse estudo nenhuma diferença significativa foi observada no peso corporal, ganho de peso, consumo da dieta, taxa de conversão tecidos processados de aves, ao longo de 42 dias de idade dos animais. Diferenças estatísticas ocorreram no peso das aves e no ganho de peso entre os dias 15 e 28, com valores maiores no milho transgênico, bem como na taxa de conversão. Entretanto, houve ausência de diferenças entre as aves alimentadas com milho MON-87427-7 x MON 89034- 3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 e qualquer um dos milhos não transgênicos usados como referência comercial. Baseado nesses resultados, com um

elevado número de indivíduos avaliados e um volumoso número de variáveis estudadas, pode-se concluir que o milho transgênico MON-87427-7 x MON 89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 é nutricionalmente equivalente ao milho não transgênico Iso-híbrido convencional.

5. A estabilidade à digestão e ao processamento industrial da proteína especificada pelo transgene com base nas propriedades físico-químicas

Estudos de estabilidade à digestão e ao processamento industrial foram conduzidos para cada uma das proteínas codificadas pelos genes cry1A.105, cry2Ab2, cry1F, pat, cp4 epsps, cry34Ab1, cry35Ab1, cry3Bb1 e aad-1, presentes no milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9.

Os diversos ensaios realizados mostraram que as proteínas expressas são termo-estáveis e degradadas em suco gástrico simulado.

6. Os possíveis efeitos deletérios do OGM em animais prenhes e seu potencial teratogênico

O milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 não difere do milho convencional em características agrônomicas, morfológicas e reprodutivas, atributos das plantas de todos os eventos simples que permitiram suas aprovações comerciais em vários países. Além disso milhos singulares desse evento têm sido usados para alimentação humana em vários países, sem ocorrência de efeitos adversos à saúde humana e animal. O milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 é também equivalente em composição química e nutricional ao milho convencional.

A biossegurança alimentar do milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, demonstrada pelos estudos realizados e pela ausência de efeitos adversos dos eventos singulares na saúde humana e animal não sinaliza a necessidade de se testar hipóteses de existência de efeitos deletérios ou potencial teratogênico em animais prenhes.

7. As conclusões de análises imunológicas e histológicas de tecidos relevantes, especialmente do trato digestivo

As sequências das proteínas foram comparadas com sequências presentes em bancos de alérgenos. As análises mostraram baixa similaridade com proteínas reconhecidamente tóxicas ou alergênicas.

8. A capacidade do OGM de produzir toxinas ou metabólitos que causem efeitos adversos ao consumidor, animal ou humano, relatando as evidências experimentais

Considerando os estudos feitos individualmente para cada milho, aliada a termo-instabilidade e suscetibilidade a fluído gástricos, os estudos concluem que milho MON 87427 x MON 89034 x DAS-01507 x MON 87411 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 não expressa qualquer proteína tóxica ou alergênica conhecida, de forma que seu consumo e/ou de seus produtos é tão seguro quanto o consumo do milho convencional.

9. Avaliações toxicológicas e farmacológicas realizadas em animais experimentais, descrevendo os resultados.

Estes estudos foram feitos por bioinformática, comparando-se a sequência de aminoácidos das proteínas correspondentes aos genes inseridos utilizando a ferramenta de BLASTp (Basic Local Alignment Search Tool de proteína) no NCBI (National Center for Biotechnology Information). Os resultados indicaram nenhuma ou similaridade não significativa entre a sequência de aminoácidos das proteínas avaliadas e sequências de aminoácidos de proteínas reconhecidas tóxicas aos humanos e/ou aos animais.

10. 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

Os estudos feitos por bioinformática mostram que as proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, Cry3Bb1, Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT, CP4 EPSPS e AAD-1, do milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 não são alergênicas, não tem similaridade estrutural de conhecidas substâncias alergênicas, são rapidamente digeridas em fluido gástrico simulado e representam uma quantidade muito pequena do total de proteína do grão do milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9.

Estas evidências mostram que é improvável que estas tenham potencial de alergenicidade, e que, portanto, o milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, é tão seguro quanto o milho convencional não transgênico, em relação a risco de ser alergênico

Plano de Monitoramento Pós-Liberação Comercial: Não consta

Parecer Final:

Considerando:

1. o histórico de uso comercial seguro dos eventos individuais que compõe esse evento piramidado
2. O alto NOAEL (na faixa de centenas de quilogramas/dia) das proteínas transgênicas expressas nesse evento
3. Análise composicional equivalente ao milho isso-híbrido não transgênico
4. Efeito indistinguível sobre crescimento e saúde de animais alimentados com dieta preparada com o evento transgênico quando comparado ao iso-híbrido
5. Alta digestibilidade e baixa resistência ao processamento industrial das proteínas transgênicas
6. Ausência de similaridade estrutural com conhecidos alérgenos humanos e proteínas tóxicas

Avalio que o evento piramidado milho MON-87427-7 x MON- 89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 é tão seguro quanto os eventos individuais e quanto ao isso-híbrido não transgênico em relação à saúde humana e animal. Assim, sou pelo deferimento do pedido de liberação comercial do referido milho.

Bibliografia:

- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ, 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology* 215, 403 - 10.
- Benjamini Y, Hochberg Y, 1995. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 57, 289 - 300.
- 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 - 35.
- Cockburn A, 2002. Assuring the safety of genetically modified (GM) foods: the importance of an holistic, integrative approach. *Journal of Biotechnology* 98, 79–106.
- Fukumori F, Hausinger RP, 1993. Purification and characterization of 2,4-dichlorophenoxyacetate/alpha-ketoglutarate dioxygenase. *The Journal of Biological Chemistry* 268, 24311 - 7.

- Gahan LJ, Gould F, Heckel DG, 2001. Identification of a Gene Associated with Bt Resistance in *Heliothis virescens*. *Science* 293, 857-60.
- Herman RA, Schafer BW, Korjagin VA, Ernest AD, 2003. Rapid digestion of Cry34Ab1 and Cry35Ab1 in simulated gastric fluid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 6823-7.
- Herman RA, Scherer PN, Wolt JD, 2002. Rapid degradation of a binary, PS149B1, delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in soil, and a novel mathematical model for fitting curve-linear decay. *Environmental Entomology* 31, 208-14.
- Herouet C, Esdaile DJ, Mallyon BA, et al., 2005. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in Transgênico plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 41, 134-49.
- Mcclintock JT, Schaffer CR, Sjoblad RD, 1995. A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides. *Pesticide Science* 45, 95-105.
- Ridley WP, Sidhu RS, Pyla PD, Nemeth MA, Breeze ML, Astwood JD, 2002. Comparison of the nutritional profile of glyphosate-tolerant corn event NK603 with that of conventional corn (*Zea mays* L.). *J Agric Food Chem* 50, 7235-43.
- Sidhu RS, Hammond BG, Fuchs RL, et al., 2000. Glyphosate-tolerant corn: the composition and feeding value of grain from glyphosate-tolerant corn is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). *J Agric Food Chem* 48, 2305-12.
- Silvanovich A, Nemeth MA, Song P, Herman R, Tagliani L, Bannon GA, 2006. The value of Short Amino Acid Sequence matches for prediction of protein allergenicity. *Toxicological Sciences* 90, 252 - 8.
- Stagg NJ, Thomas J, Herman RA, Juberg DR, 2012. Acute and 28-day repeated dose toxicology studies in mice with aryloxyalkanoate dioxygenase (AAD-1) protein expressed in 2,4-D tolerant DAS-40278-9 maize. *Regul Toxicol Pharmacol* 62, 363-70.
- Venkatesh TV, Breeze ML, Liu K, Harrigan GG, Culler AH, 2014. Compositional analysis of grain and forage from MON 87427, an inducible male sterile and tissue selective glyphosateresistant maize product for hybrid seed production. *J Agric Food Chem* 62, 1964-73.

- Venkatesh TV, Cook K, Liu B, et al., 2015a. Compositional differences between near-isogenic GM and conventional maize hybrids are associated with backcrossing practices in conventional breeding. *Plant Biotechnol J* 13, 200-10.

- Venkatesh TV, Harrigan GG, Perez T, Flint-Garcia S, 2015b. Compositional assessments of key maize populations: B73 hybrids of the Nested Association Mapping founder lines and diverse landrace inbred lines. *J Agric Food Chem* 63, 5282-95.