



## PARECER SETORIAIS DE VEGETAL/AMBIENTAL

**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

**Decisão:** DEFERIDO

### PARECER TÉCNICO

#### 1. Informações Gerais

Em janeiro de 2014, a empresa Syngenta Seeds Ltda solicitou à CTNBio a análise sobre a biossegurança do milho “Milho 5307” e do “Milho Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21”, considerados pela proponente como de Nível de Biossegurança 1 para efeito de sua liberação comercial no Brasil. O milho 5307 expressa a proteína inseticida eCry3.1Ab e o milho Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21 foi desenvolvido por melhoramento clássico dos eventos já liberados comercialmente pela CTNBio: BT11, MIR162, TC1507, MIR604 e GA21, onde algumas de suas formas combinadas também foram liberadas (Bt11xGA21, Bt11xMIR162xGA21 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21). Mais recentemente, em fevereiro de 2015, com base no artigo 4º-A e do Artigo 22º, inciso 2º, ambos da RN5, alterada pela RN15 de 13 de fevereiro de 2015, a empresa solicitou a adequação desta proposta de liberação comercial, pedindo que a liberação também seja aplicada ao milho Bt11xMIR162.

O objetivo da solicitação é para a liberação no meio ambiente, cultivo, produção, manipulação, transferência, transporte, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo e descarte de OGM e seus derivados, e das linhagens/cultivares derivadas.

O milho 5307 confere resistência a coleópteros e lepidópteros, o milho Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21 confere resistência a coleópteros e lepidópteros e tolerância aos herbicidas glifosato e glifosinato e o milho Bt11xMIR162 confere resistência a lepidópteros e tolerância ao herbicida glifosinato.



## 2. Descrição dos OGMs

### Milho 5307

O milho 5307 foi produzido por meio de transformação via *Agrobacterium tumefaciens* de embriões imaturos de milho, por meio de vetor plasmidial que contém o gene *eCry3.1Ab* que codifica a proteína eCry3.1Ab. A proteína eCry3.1Ab é uma proteína quimérica derivada do *Bacillus thuringiensis* composta pelas proteínas Cry1Ab e Cry3A. A proteína eCry3.1Ab foi geneticamente modificada 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 apresenta 654 aminoácidos e aproximadamente 73,7 Kd. A troca na região variável resultou em forte bioatividade desta proteína inseticida híbrida contra larvas do coleóptero *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae), considerada uma das principais pragas da cultura do milho. O milho 5307 contém também o gene *pmi (manA)* de *E. coli* que codifica uma fosfomanose isomerase (PMI) e está sob regulação do promotor do gene da ubiquitina de *Zea mays* e do terminador NOS de *A. tumefaciens*. Este gene foi utilizado como marcador de seleção no processo de transformação.

O milho 5307 já foi aprovado em vários países, seja para alimentação humana, ração animal ou plantio, conforme mostrado na Tabela abaixo.

País	Alimentação Humana	Ração Animal	Plantio
Austrália	2012		
Canadá	2013	2013	2013
Japão	2013	2013	2012
México	2013		
Nova Zelândia	2012		
Rússia	2014	2014	
Coréia do Sul		2013	
Taiwan	2012		
Estados Unidos	2012	2012	2012

Fonte: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=157>



## Milho Bt11xMIR162

O milho Bt11xMIR162 contém os seguintes genes:

- O gene *pat* de *Streptomyces viridochromogenes*, que codifica a enzima fosfinotricina N-acetiltransferase (PAT), que confere tolerância ao herbicida glifosinato;
- A forma truncada do gene *cryIAb*, uma forma sintética do gene *cryIAb* de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. A proteína Cry1Ab é uma delta-endotoxina que confere resistência a certos lepidópteros;
- O gene *vip3Aa20* de *Bacillus thuringiensis* linhagem AB88, que codifica a proteína inseticida variante Vip3Aa, que confere resistência a certos lepidópteros;
- O gene *pmi* de *Escherichia coli*, que codifica a enzima fosfomanose isomerase (PMI), que confere a característica de metabolizar manose e que foi utilizado marcador de seleção no processo de transformação.

O milho 5307 já foi aprovado na Argentina, Japão Filipinas e Taiwan, seja para alimentação humana, ração animal ou plantio, conforme mostrado na Tabela abaixo.

País	Alimentação Humana	Ração Animal	Plantio
Argentina	2014	2014	2014
Japão	2010	2010	
Filipinas	2013	2013	
Taiwan	2015		

Fonte: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=282>

## Milho Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21

O milho Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21, por sua vez, foi desenvolvido por meio de melhoramento 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 pela CTNBio em setembro de 2007, possui o gene *cryIAb* de *Bacillus thuringiensis*, que



confere resistência a certos insetos lepidópteros, e o gene *pat*, derivado da bactéria de 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 pela CTNBio em setembro de 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 contém os genes *cry1Fa2* e o gene *pat*, que confere resistência a insetos e herbicidas. O evento GA21 contém o gene *mepsps* que expressa a enzima 5-Enolpiruvil Shikimato-3-Fosfato sintase (mEPSPS). 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, mas ausente nos animais. A proteína natural EPSPS é altamente sensível a produtos herbicidas contendo glifosato, enquanto que a proteína mutada mEPSPS não é afetada pelo herbicida glifosato, conferindo então às plantas que a contém a tolerância a este herbicida.

Os eventos MIR604 e GA21 foram caracterizados pela Syngenta em 2003 e 2005, respectivamente, e as informações foram apresentadas nos processos de Liberação Comercial submetidos à CTNBio. Recentemente, em 2015, durante nova caracterização molecular apresentada pela empresa proponente foram detectadas divergências na caracterização molecular para estes eventos, sendo três diferenças no evento GA21 e uma no evento MIR604. Para o evento GA21, os dados anteriores da sequência indicaram que o inserto continha seis cópias do cassete de transformação contendo o gene *mepsps* (cópia 1 com promotor truncado, cópias 2, 3 e 4 completas, cópia 5 com *mepsps* truncado e cópia 6 com apenas o promotor da actina truncado). Os dados de 2015 indicaram que o inserto do evento GA21 contém cinco cópias do cassete, sendo que a cópia 4 que foi previamente relatada não existe.

Para o evento GA21, foi observada uma divergência na sequência de nucleotídeos dentro do promotor da actina (cópia 6 com promotor da actina truncado), mais próximo da sequência flanqueadora 3'. A sequência foi determinada como sendo GTCGGGATA em vez de



GTCGGATA, como inicialmente relatado. Ainda para o evento GA21, na sequência genômica flangeadora 3' do GA21 atualizada, 3 pares de bases não foram identificados. A sequência reportada anteriormente foi GCCGCCTTT, e a nova análise indica que é GCC- -ATT. Além disso, o par de bases subsequente foi alterada de T para A. Já para o evento MIR604, a sequência atualizada indica que o par de bases 631 no promotor MTL é T e não C. A revolução das ferramentas de sequenciamento e análise de expressão gênica nos últimos 5 anos, com a redução vertiginosa dos custos destas tecnologias, tem permitido uma precisão ainda maior na caracterização de plantas, sejam elas GM ou não. As novas variações observadas e apresentadas pela empresa nos eventos MIR604 e GA21 não interferem com as avaliações e decisões feitas pela CTNBio para a liberação comercial dos eventos a época, pois a comissão não se atém somente à caracterização molecular, mas também a todos os estudos e resultados de toxicidade, alergenicidade, composição centesimal, equivalência substancial, e os possíveis impactos à saúde humana e animal e ao meio ambiente obtidos em testes com estes eventos nas diferentes regiões do Brasil e do mundo. O milho GA21 já é plantado comercialmente no Brasil em larga escala desde a safra 2010/11. O MIR604 não é plantado no Brasil, mas é cultivado nos EUA desde 2007, onde tem tido resultado positivo no controle de insetos. Durante o plantio comercial destes materiais no Brasil e nos EUA nenhum impacto a saúde humana, animal ou ao meio ambiente foi detectado, o que confirma a decisão da CTNBio quanto a biossegurança destes eventos, que já possuíam as alterações nas inserções no genoma do milho agora melhor caracterizadas.

### 3. Biossegurança do Produto

A avaliação da segurança feita pela setorial Humana e Animal da CTNBio com base nos dados apresentados pela empresa proponente sobre toxicidade/alergenicidade estão de acordo com a avaliação deste parecerista. A expressão gênica das proteínas eCry3.1Ab e fosfomanose isomerase (PMI) no grão com relação à exposição dietética potencial aos humanos da proteína eCry3.1Ab (0,008% da proteína total) e da proteína PMI (0,005% da proteína total), seria muito baixa. A potencialidade alergênica destas duas proteínas, tanto pela abordagem de peso-da-evidência como pela similaridade com sequência de aminoácidos de proteínas alergênicas conhecidas, não demonstrou semelhanças. Estas duas proteínas sofreram rápida degradação em fluido gástrico simulado de mamíferos, sendo inativadas/desnaturadas com a exposição ao calor



e, portanto, consideradas improváveis de serem causadoras 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. Os eventos BT11, MIR162, TC1507, GA21 e MIR604 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 sobre o uso comercial que comprovam a sua biossegurança para o ambiente e para a saúde humana e animal.

O milho Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21 já foi aprovado no Canadá, Japão México, África do Sul e Taiwan, seja para alimentação humana, ração animal ou plantio, conforme mostrado na Tabela abaixo.

País	Alimentação Humana	Ração Animal	Plantio
Canadá			2013
Japão	2013	2013	
México	2013		
África do Sul	2014	2014	
Taiwan	2013		

Fonte: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=331>

#### 4. Segurança Ambiental

Formulações microbianas de *B. thuringiensis* vêm sendo utilizadas há décadas como biopesticidas em sistema de produção orgânica ou sob condições convencionais agrícolas, sendo que até hoje nenhum impacto à saúde humana, animal e ao meio ambiente foram relacionados ao seu uso. As plantas GM que expressam proteínas Cry já vêm sendo cultivadas em diversos países há mais de 19 anos. As construções gênicas solicitadas neste processo para liberação comercial já foram liberadas no Brasil (exceto a do Milho 5307) e em vários países, tanto para consumo como para cultivo, sem nenhuma ocorrência de efeito adverso à saúde humana, animal, ao meio ambiente e a organismos não alvo. A maioria esmagadora da literatura científica sobre a segurança sanitária e ambiental atesta não existirem riscos observáveis na introdução destas culturas contendo proteínas Cry.



## 5. Parecer Final

O histórico de uso seguro das proteínas Cry, Vip3, EPSPS, PAT e PMI em plantios comerciais que, para alguns destes genes já vem sendo usados a mais de 19 anos em vários países do mundo, inclusive o Brasil, e com base em dados e nas evidências apresentados no processo e na literatura científica atual disponível para as proteínas descritas na solicitação em discussão, consideramos que os eventos GM são tão seguros quanto seus equivalentes convencionais em relação à sua segurança alimentar e ambiental. As avaliações agronômicas, composição centesimal, equivalência substancial, entre outros dados apresentados, apresentam resultados que não fogem dos padrões dos genótipos de milho disponíveis no mundo. Os resultados agronômicos nos milhos 5307 e Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21 não indicaram nenhuma mudança que mostre alterações significativas nos impactos que uma lavoura de milho convencional possa trazer à saúde humana, animal ou ao meio ambiente. Todas as informações apresentadas na caracterização molecular, da análise de herança genética e da análise comparativa de níveis de expressão das proteínas encontram-se dentro dos padrões esperados.

O milho (*Zea mays L.*) Bt11xMIR162, resistente a insetos e tolerante ao herbicida glufosinato de amônio, foi desenvolvido pelo cruzamento entre linhagens geneticamente modificadas contendo os eventos Bt11 e MIR162, já aprovados para liberação comercial pela CTNBio (Bt11: processo nº 01200.002109/2000-04, parecer técnico nº 1255/2008; MIR162: processo nº 01200.007493/2007-08, parecer técnico nº 2042/2009). O milho Bt11 está aprovado no Brasil desde 2008, possuindo híbridos contendo essa tecnologia cadastrados no Registro Nacional de Cultivares. O milho MIR162 foi aprovado em 2009 e possui híbridos registrados desde 2010.

Híbridos com os eventos isolados ou contendo a combinação destas tecnologias (GA21: processo 01200.000062/2006-21, Parecer Técnico 1597/2008; MIR604: processo nº 01200.004553/2012-90, Parecer Técnico nº 4207/2014; Bt11xMIR162xGA21: processo nº 01200.005038/2009-21, parecer técnico nº 2722/2010; Bt11xMIR162xMIR604xGA21: processo nº 01200.004553/2012-90, parecer técnico nº 4207/2014; ) estão sendo plantados no Brasil, sem



que nenhum impacto relevante à saúde humana, animal ou ao meio ambiente tenham sido observados.

Portanto, todos os milhos GM presentes nesta proposta de liberação comercial, classificados como classe de risco 1, são tão seguros quanto seus equivalentes convencionais, e não são potencialmente causadores de significativa degradação do meio ambiente ou à saúde humana e animal. Nas avaliações apresentadas à CTNBio foram utilizados critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco de matérias-primas geneticamente modificadas e um conjunto de evidências que demonstraram a segurança para o cultivo dos milhos 5307, Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21 e Bt11xMIR162. Assim, sou Favorável à solicitação da empresa proponente para liberação comercial dos milhos GM apresentados nesta proposta.

Na análise, foram considerados documentos aportados na Secretaria Executiva da CTNBio pela requerente, resultados de liberações planejadas no meio ambiente e estudos e publicações científicas independentes da requerente.

## 6. Restrições ao uso do OGM e seus derivados

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”.

Não há diferença entre a performance agrônômica das plantas transgênicas e convencionais, bem como há equivalência substancial entre as mesmas. Assim, as informações indicam que as plantas transgênicas de milho não diferem fundamentalmente dos genótipos de milho não transformado, com exceção da resistência a coleópteros e lepidópteros (milho 5307), resistência a coleópteros e lepidópteros e tolerância aos herbicidas glifosato e glifosinato (milho Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21) e resistência a lepidópteros e tolerância ao herbicida glifosinato (milho Bt11xMIR162). Não há também evidência de reações adversas ao uso destes milhos. Por essa razão, não existem restrições ao uso destes milhos ou de seus derivados, seja para alimentação humana ou de animais.

O milho (*Zea mays*) não é nativo do Brasil e não existe no país nenhuma espécie nativa, silvestre ou feral que possa inter cruzar com *Zea mays*. Portanto, não há riscos adicionais para o



meio ambiente com o plantio dos milhos 5307, Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21 e Bt11xMIR162 além daqueles já ocasionados para as diferentes variedades de milho convencional em uso no país.

## **7. Considerações sobre particularidades das diferentes regiões do País (subsídios aos órgãos de fiscalização)**

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”.

No Brasil, não existem espécies aparentadas do milho em distribuição natural.

## **8. Conclusão**

Diante do exposto, e considerando os critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco de matérias-primas geneticamente modificadas, é possível concluir que os milhos 5307, Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21 e Bt11xMIR162 é tão seguros quanto seus equivalentes convencionais. No âmbito das competências que lhe são atribuídas pelo art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que o pedido atende às normas e às legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal, e concluiu que os milhos 5307, Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21 e Bt11xMIR162 são substancialmente equivalentes ao milho convencional, sendo seu consumo seguro para a saúde humana e animal. No tocante ao meio ambiente, a CTNBio concluiu que os milhos 5307, Bt11xMIR162xMIR604xTC1507x5307xGA21 e Bt11xMIR162 não são potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica à do milho convencional.

A CTNBio considera que essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou de agravos à saúde humana e animal. As restrições ao uso do OGM em análise e seus derivados estão condicionadas ao disposto na Lei 11.460, de 21 de março de 2007.



A análise da CTNBio considerou os pareceres emitidos pelos membros da Comissão; documentos aportados na Secretaria Executiva da CTNBio pela requerente; resultados de liberações planejadas no meio ambiente e textos relacionados. Foram também considerados e consultados estudos e publicações científicas independentes da requerente e realizados por terceiros, bem como as análises já realizadas em outros países pelos respectivos órgãos de regulamentação de organismos geneticamente modificados.

## 9. Bibliografia

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 Science**, v. 84, p. 385-394.

ASTWOOD, J.; LEACH, J. N.; FUCHS, R. L. (1996). Stability of food allergens to digestion in vitro. **Nature Biotechnology**, v. 14, p.1269-1273.

BRAVO A, GILL SS & SOBERÓN M. (2007) Mode of action of Bacillus thuringiensis Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, v. 49, p. 423-435

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 Research**, v. 3, p. 985-94

BRAKE, J.; FAUST, M. A.; STEIN, J. (2003). Evaluation of transgenic event Bt11 hybrid corn in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, p. 551-559.

BRODERICK, N.A.; RAFFA, K.F.; HANDELSMAN, J. (2006). Midgut bacteria required for Bacillus thuringiensis insecticidal activity. **Proceeding of the National Academy of Science USA**, v. 103, p. 15196-15199.

CERA. A review of the environmental safety of the CP4 EPSPS protein. (2011a). **Environmental Biosafety Research**, v. 10, p. 5 – 25.

CERA. A review of the environmental safety of the Cry1Ab protein. (2011b). **Environmental Biosafety Research**, v. 10, p. 51 – 71.

CERA. A review of the environmental safety of the PAT protein. (2011c). **Environmental Biosafety Research**, v. 10, p.73 – 101.

COMISSÃO EUROPEIA. **Uma década e pesquisa em OGM financiada pela UE** (2001 - 2010) Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2010. 264 p.



DUAN JJ, LUNDGREN JG, NARANJO S, MARVIER M (2010). Extrapolating non-target risk of Bt crops from laboratory to field. *Biology Letters*, v. 6, p. 74–77.

JOERSBO, M.; DONALDSON, I.; KREIBERG, J.; PETERSEN, S. G.; BRUNSTEDT, J.; OKKELS, F. T. (1998). Analysis of mannose selection used for transformation of sugar beet. *Molecular Breeding*, v.4, p.111-117.

LEMAUX, P.G. (2008). Genetically Engineered plants and foods: a scientist's analysis of the issues (Part I). *Annual Review of Plant Biology*, v. 59, p.771–812.

LEMAUX, P.G. (2009). Genetically Engineered plants and foods: a scientist's analysis of the issues (Part II). *Annual Review of Plant Biology*, v. 60, p. 511-559.

MARVIER M, MCCREEDY C, REGETZ J, KAREIVA P (2007) A metanalysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. *Science*, v. 316, p. 1475–1477.

NEGROTTO, D.; JOLLEY, M.; BEER, S.; WENCK, A. R.; HANSEN, G. The use of phosphomannose-isomerase as a selectable marker to recover transgenic maize plants (*Zea mays* L.) via *Agrobacterium* transformation. *Plant Cell Reports*, v. 19, p.798-803, 2000.

NICOLIA, A.; MANZO, A.; VERONESI, F.; ROSELLINI, D. An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research. (2014). *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 34: 77–88.

ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. (2006). Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nature Biotechnology*, v. 24, p. 63–71.

SANVIDO, O., ROMEIS, J., BIGLER, F. (2007). Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercial cultivation. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v.107, p. 235-278.

Data: 06/10/2015

**Dr. Jesus Aparecido Ferro**  
**Membro da CTNBio**

**Assessor:** Norma Paes