

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 progênes.

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”.

3. Fundamentação Técnica:

O objetivo da criação do evento MZIR098, foi o 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, já aprovados pela CTNBio. Esta combinação contida no milho MZIR098, reduz o trabalho operacional e consequentemente o

custo na produção de um novo híbrido de milho, quando comparada a combinação dos eventos contidos em materiais diferentes (5307 e MIR604).

A proteína Cry3.1Ab produzida pelo milho MZIR098 é idêntica àquela produzida pelo milho do evento 5307 da Syngenta, e a proteína mCry3A é idêntica à produzida pelo milho do evento MIR604 da Syngenta. A proteína PAT produzida pelo milho MZIR098 é idêntica à produzida pelo milho Bt11 da Syngenta, assim como outros produtos de milho e soja disponíveis comercialmente. As proteínas inseticidas produzidas por MZIR098 já estão disponíveis comercialmente em combinação de produtos combinados oferecidos aos produtores nos Estados Unidos e Canadá e receberam aprovações para consumo humano, animal e quanto sua segurança ambiental em vários países. Todos os eventos aqui apresentados (isolados e conjugados) já tiveram processos RN6 E RN8 com relatórios aprovados.

O evento MZIR098 foi produzido por meio de transformação via *Agrobacterium tumefaciens* de embriões imaturos de milho, por meio do vetor plasmidial que contém os genes *ecry3.1Ab* e *mcry3A*, que codificam as proteínas *eCry3.1Ab* e *mCry3A*, e o gene *pat-08* que codifica a enzima fosfinotricina acetiltransferase (PAT). 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* (SEKAR et al., 1987). O gene otimizado para milho foi então modificado para incorporar um sítio de reconhecimento consensual da protease G catepsina 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 (fosfinotricina). A PAT foi utilizado como um marcador de seleção no desenvolvimento do milho MZIR098.

Análises de *Southern blot* foram usadas para caracterizar a inserção transgênica do milho MZIR098 determinando o número de sítios de integração do T-DNA do plasmídeo pSYN17629 e o número de cópias do T-DNA em cada sítio. Os resultados do estudo de *Southern blot* determinaram que há apenas uma única cópia do T-DNA pSYN17629 integrada no genoma do milho MZIR098 e que não há fragmentos estranhos adicionais de T-DNA em outros locais do genoma. Esta caracterização estabeleceu a identidade genética da geração MZIR098 T2 usada para criar as linhagens de milho comercial MZIR098 e as gerações de milho MZIR098 usadas nos estudos de Biossegurança.

A análise da sequência de nucleotídeos determinou que a inserção MZIR098 consiste da região do pSYN17629 T-DNA intacta, demonstrando que 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 proporções de segregação para *ecry3.1Ab*, *mcry3A* e *pat-08* em três gerações de plantas do milho MZIR098 foram, como esperadas, herdadas de acordo com os princípios Mendelianos. Os dados indicam que a inserção é herdada como um único locus no genoma nuclear do milho. Esses dados e os resultados das análises de *Southern blot* do evento MZIR098 indicam que o locus transgênico é herdado de modo estável durante o melhoramento convencional.

Não são esperados efeitos adversos na cadeia alimentar humana e animal do milho MZIR098, tampouco dos seus derivados e das suas proteínas expressas. A proteína *Cry3.1Ab* produzida pelo milho MZIR098 é idêntica àquela produzida pelo milho do evento 5307 da

Syngenta, e a proteína mCry3A é idêntica à produzida pelo milho do evento MIR604 da Syngenta. A proteína PAT produzida pelo milho MZIR098 é idêntica à produzida pelo milho do evento Bt11 da Syngenta, assim como outros produtos de milho e soja disponíveis comercialmente. As proteínas inseticidas produzidas por MZIR098 já estão disponíveis comercialmente em combinação de produtos combinados ou stacks oferecidos aos produtores de milho nos Estados Unidos e Canadá e receberam muitas aprovações para consumo humano, animal e quanto a sua segurança ambiental em vários países. Nenhuma diferença significativa foi encontrada no estudo de composição nutricional do milho MZIR098, o milho convencional e a variação natural dos componentes para a cultura do milho, evidenciando a equivalência nutricional do milho MZIR098.

As concentrações das proteínas eCry3.1Ab, mCry3A e PAT do milho MZIR098 foram quantificadas por meio de ensaios imunoenzimáticos ELISA e estas concentrações avaliadas conjuntamente com os níveis de toxicidade das mesmas, apresentados nos estudos de toxicidade aguda, não revelaram possíveis efeitos adversos na cadeia alimentar humana e animal pela ingestão das proteínas eCry3.1Ab, mCry3A e PAT. Todas as análises de toxicidade aguda foram realizadas separadamente com às proteínas eCry3.1Ab, mCry3A e PAT pag. 135 e 136 que tiveram experimentos com animais sem apresentação da autorização de Comitê de Ética em Experimentação Animal.

No estudo de alimentação com aves não houve diferenças estatísticas entre MZIR098 e o grupo controle não transgênico, em termos de mortalidade, consumo total de alimento, taxa de conversão alimentar, peso corporal final médio, pesos absolutos de tecidos e pesos relativos de tecidos. Embora houvesse diferenças estatísticas esporádicas no consumo médio de alimentos durante as semanas 1, 2 e 4, e nos pesos corporais médios medidos no sétimo dia entre MZIR098 e os controles, os valores observados nesses pontos para frangos de corte alimentados com dietas baseadas no milho MZIR098 estavam dentro da faixa, ou eram comparáveis com os valores observados para frangos de corte alimentados com dietas preparadas com as variedades de milho referência, não geneticamente modificados. Essas diferenças esporádicas, portanto, não eram prejudiciais às aves alimentadas com as dietas baseadas no milho MZIR098

O peso das evidências indica que eCry3.1Ab, mCry3A e a proteína PAT não sejam um alergênico alimentar, por que são derivados de um organismo fonte que não contém alergênicos conhecidos, suas sequências de aminoácidos não são significativamente semelhante com as sequência de aminoácidos de alergênicos conhecidos, e não são glicosiladas. Além disso, eCry3.1Ab, mCry3A e a proteína PAT são rapidamente degradados em fluídos gástrico e intestinal simulados de mamíferos e são sensíveis ao calor.

Adicionalmente, o milho MZIR098 apresenta histórico de uso seguro, cuja as proteínas não tem características associadas às proteínas tóxicas ou alergênicos conhecidos, está aprovado por diversas agências reguladoras em mais de 10 países para consumo humano e em vários outros para consumo animal e cultivo. Além disso, os resultados de estudos de segurança demonstram que eCry3.1Ab, mCry3A, e PAT presentes no milho MZIR098 não apresentam risco de danos para o homem ou animais que consumam produtos de milho ou à vida selvagem potencialmente expostas ao milho MZIR098. Avaliações de segurança de eCry3.1Ab, mCry3A, e PAT têm sido revistas e aprovadas por numerosas agências em todo o mundo.

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). Com base no seu histórico de uso e no conjunto de evidências obtidas e com base nos dados e informações apresentadas neste documento, concluiu-se que o milho MZIR098 não apresenta riscos significativos sobre a saúde humana e animal. Qualquer dano, se houvesse, seria reduzido e com probabilidade de ocorrência desprezível, ou seja, um risco negligenciável.

Considerando o conjunto de evidências obtidas que demonstram a segurança para consumo do milho MZIR098, a CIBio da Syngenta Proteção de Cultivos Ltda apresenta o presente processo, visando à autorização da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio para a liberação comercial do milho MZIR098 para 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 OGM e seus derivados, bem como suas progênies, nos preceitos da Lei nº 11.105, de 24/03/2005 e dos Anexos II e III, da Resolução Normativa nº 5, de 13 de março de 2008, da CTNBio.

Mais especificamente com o objetivo de se evitar o fluxo gênico dos grãos, considerando que o uso proposto é apenas para alimentação humana e animal, os envolvidos na importação, transporte e uso do OGM deverão adotar as seguintes medidas de biossegurança:

(i). Notificar previamente 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 depositados nos veículos de transporte ou destruídos, 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 ajuntados 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.

As medidas são válidas para todas as regiões do Brasil.

Os procedimentos e demais medidas complementares deverão ser estabelecidos pelos órgãos de fiscalização e controle.

4. Parecer:

De acordo com a Resolução Normativa nº 5 nos Anexos II e III de 13 de março de 2008, da CTNBio considero DEFERIDO para a liberação comercial do milho MZIR098 para 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 OGM e seus derivados, bem como suas progênies.

Data: 04/09/18

Dra. Marcia Vanusa da Silva

Membro da CTNBio

Assessor Técnico: Orlando Cardoso