



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

LIBERAÇÃO COMERCIAL

PARECER TÉCNICO 5128/16

Processo: 01200.002046/2013-01

Data de Protocolo: 20/05/2013

Próton: 19467/13

Assunto: Liberação Comercial de Organismo Geneticamente Modificado

Requerente: Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia

CQB: 107/99

CNPJ: 08.636.452/0001-76

Endereço: Av. Nações Unidas, 14171, 2º Andar, Ed. Diamond tower, Santo Amaro, São Paulo (SP).

Decisão: Deferido

Reunião: 194ª. Reunião Ordinária ocorrida em 28/07/2016

A CTNBio, após apreciação do pedido de parecer para liberação comercial de Milho resistente a insetos e tolerante ao glifosato e glufosinato de amônio, evento MON89034xMON88017xTC1507xDAS-59122-7, concluiu pelo seu **DEFERIMENTO**, nos termos deste parecer técnico.

A Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda., solicitou para CTNBio parecer sobre a biossegurança de milho geneticamente modificado MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7, resultado da combinação por cruzamento genético clássico dos eventos singulares MON 89034, MON 88017, TC1507 e DAS-59122-7. O evento MON 89034 contém os genes *cry2Ab2* e *cry1A.105*, que codificam as proteínas CRY2Ab2 e CRY1A.105, que controlam os lepidópteros praga do milho. O evento MON 88017 contém os genes *cry3Bb1* e *cp4 epsps* que codificam as proteínas CRY3Bb1 e CP4 EPSPS, que controla coleópteros praga e confere tolerância ao herbicida glifosato, respectivamente. O evento TC1507 contém os genes *cry1F* e *pat* que codificam as proteínas CRY1F e PAT, que controla lepidópteros praga e confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio, respectivamente. O evento DAS-59122-7 contém os genes *cry34Ab1*, *cry35Ab1* e *pat*, que codificam as proteínas CRY34Ab1, CRY35Ab1 que controlam coleópteros praga e a proteína PAT, que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio.

A segurança alimentar humana e animal do presente milho foi analisada através de estudos de composição química e nutricional de forragem comparativamente ao cultivar convencional. Foram quantificados os teores de proteínas, fibras, minerais, aminoácidos, vitaminas, ácidos graxos, antinutrientes, isoflavonóides, etc. Os resultados comprovaram que milho geneticamente modificado não difere do milho convencional em sua composição química e nutricional, exceto pela presença e expressão dos genes descritos, conforme esperado.

A segurança ambiental do evento foi analisada em estudos realizados no Brasil e em outros países que demonstraram que o milho geneticamente modificado não difere do milho convencional em características agrônômicas, morfológicas, reprodutivas, assim como é equivalente em composição química e nutricional com exceção apenas às características de tolerância a herbicidas e a resistência a insetos. O fenótipo das plantas transformadas contendo os genes descritos é similar ao fenótipo da planta original no que se refere aos órgãos reprodutivos, à duração do período de desenvolvimento da planta, ao seu método de propagação. Além disso, a soja contendo o referido evento de transformação, assim como o milho convencional, não apresenta tendência a proliferar-se como planta daninha, e não é uma espécie invasiva em ecossistemas naturais.

Para o presente parecer foram analisados os relatórios apresentados pela requerente bem como literatura científica independente. Considerando as particularidades das diferentes regiões do país, estudos científicos realizados para avaliação de bissegurança, características agrônômicas e fenotípicas, como parte da avaliação de risco deste OGM, foram incluídas regiões representativas para a cultura da soja no território brasileiro. A CTNBio concluiu que o presente milho não é potencialmente causador de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica ao milho convencional. 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.

PARECER TÉCNICO

I. Identificação do OGM

Designação do OGM: evento MON89034xMON88017xTC1507xDAS-59122-7

Requerente: Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda

Espécie: *Zea mays*

Característica Inserida: resistência a insetos e tolerância ao glifosato e glufosinto de amônio

Método de Introdução da Característica: Milho obtido por cruzamento convencional dos eventos contendo MON89034, MON88017, TC1507, DAS-59122-7

Uso Proposto: Liberação comercial do milho evento combinado MON89034xMON88017xTC1507xDAS-59122-7 bem como suas progênes, nas modalidades de cultivo,

consumo animal e humano, manipulação, transporte, descarte, importação e exportação, bem como quaisquer outras atividades relacionadas.

II. Informações Gerais

A requerente, a empresa Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda, através dos requisitos estabelecidos na Resolução Normativa 05 da CTNBio, solicita a liberação para uso comercial de milho obtido por cruzamento convencional, entre os eventos MON89034xMON88017xTC1507xDAS-59122-7 e expressam as proteínas CRY2Ab2, CRY1A.105, CRY3Bb1, CP4 EPSPS, CRY1F, CRY34Ab1, CRY35Ab1 e PAT codificadas pelos genes herdados presentes nos quatro eventos parentais

O milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 é resultado da combinação por cruzamento genético clássico dos eventos individuais MON 89034, MON 88017, TC1507 e DAS-59122-7.

O evento MON 89034 contém os genes *cry2Ab2* e *cry1A.105*, que codificam as proteínas CRY2Ab2 e CRY1A.105, que controlam os lepidópteros praga do milho.

O evento MON 88017 contém os genes *cry3Bb1* e *cp4 epsps* que codificam as proteínas CRY3Bb1 e CP4 EPSPS, que controla coleópteros praga e confere tolerância ao herbicida glifosato, respectivamente.

O evento TC1507 contém os genes *cry1F* e *pat* que codificam as proteínas CRY1F e PAT, que controla lepidópteros praga e confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio, respectivamente.

O evento DAS-59122-7 contém os genes *cry34Ab1*, *cry35Ab1* e *pat*, que codificam as proteínas CRY34Ab1, CRY35Ab1 que controlam coleópteros praga e a proteína PAT, que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio.

O milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 expressa as proteínas CRY2Ab2, CRY1A.105, CRY3Bb1, CP4 EPSPS, CRY1F, CRY34Ab1, CRY35Ab1 e PAT codificadas pelos genes herdados presentes nos quatro eventos parentais, ou seja, apresenta resistência a determinados insetos da parte aérea e das raízes do milho, ao mesmo tempo em que apresenta tolerância às aplicações foliares do herbicida glufosinato de amônio e glifosato.

III – Caracterização Molecular do evento:

A linhagem de milho que contém o evento **MON 89034** foi obtida por transformação genética mediada por *Agrobacterium* com a inserção de um fragmento de restrição do plasmídeo vetor PV-ZMIR245, que possui uma construção gênica que contém o gene *cry2Ab2*, de *Bacillus thuringiensis*, e o gene *cry1A105* que se originou do micro-organismo *Streptomyces viridochromogenes*. Os genes *cry2Ab2* e *cry1A.105* codificam as proteínas CRY2Ab2 e CRY1A.105, que conferem às plantas de milho proteção contra o ataque de determinados insetos da ordem Lepidoptera considerados importantes pragas do milho. Entre estes insetos praga estão a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*), a broca do colmo (*Diatraea saccharalis*) e a lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea*).

A linhagem de milho **MON 88017** foi obtida por transformação genética mediada por *Agrobacterium*

com a inserção de um fragmento de restrição do plasmídeo vetor PV-ZMIR39, que contém uma construção gênica constituída pelos genes *cry3Bb1* originário de *Bacillus thuringiensis* e *cp4 epsps* proveniente de *Agrobacterium* cepa CP4, que codificam as proteínas CRY3Bb1 e CP4 EPSPS, que conferem às plantas de milho proteção contra determinadas espécies de insetos praga de raiz do gênero *Diabrotica* e tolerância ao herbicida glifosato.

A linhagem de milho que contém o evento **TC1507** foi obtida por transformação genética pelo método de aceleração de partículas com a inserção de um fragmento de restrição do plasmídeo PHP8999 que possui uma construção gênica que contém o gene *cryIF*, de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*, e o gene *pat* que se originou do microrganismo *Streptomyces viridochromogenes*. O gene *cryIF* codifica a proteína CRY1F, que confere às plantas de milho proteção contra o ataque de determinados insetos da ordem Lepidoptera considerados importantes pragas do milho. Entre estes insetos praga estão a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e a broca do colmo (*Diatraea saccharalis*). O gene *pat* expresso no milho TC1507 codifica a proteína fosfotricina acetiltransferase (PAT), que confere às plantas tolerância às aplicações foliares do herbicida glufosinato de amônio. Parte do vetor que contém o gene *nptII* que confere resistência ao antibiótico canamicina não estava presente no fragmento linear utilizado na transformação de milho.

A linhagem de milho **DAS-59122-7** foi obtida por transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Neste processo, a construção gênica compreendida entre as bordas Le R do plasmídeo PHP17662 foi transferida para o genoma da célula vegetal. A construção gênica do evento DAS-59122-7 foi constituída pelos genes *cry34Ab1*, *cry35Ab1* e *pat*. Os genes *cry34Ab1* e *cry35Ab1* codificam as proteínas CRY34Ab1 e CRY35Ab1, que quando expressas conferem às plantas de milho proteção contra determinadas espécies de insetos praga de raiz do gênero *Diabrotica*. O gene *pat* expresso no milho DAS-59122-7 codifica a proteína fosfotricina acetiltransferase (PAT), que confere às plantas tolerância às aplicações foliares do herbicida glufosinato de amônio.

O milho combinado MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 foi obtido por métodos de melhoramento genético tradicional, através do cruzamento de progênies de milho DAS-59122-7 com progênies de milho TC1507, por sua vez cruzadas com progênies de milho MON 89034, também cruzadas com progênies de milho MON 88017, de forma que os insertos presentes nos parentais são herdados pelo milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7.

Todos os mapas genéticos, sequência dos genes, promotores e genes marcadores dos quatro eventos individuais foram apresentados, da mesma forma também os resultados de Southern blot e expressão de proteínas.

IV - Liberações Comerciais Aprovadas e Submetidas:

O evento **MON 89034** foi aprovado pela CTNBio para cultivo comercial no Brasil (Extrato de Parecer Técnico nº 2052/2009, publicado no D.O.U. em 16/10/2009), e possui aprovações nos Estados Unidos, Argentina, Austrália, Canadá, Colômbia, União Europeia, Japão, Coreia, Filipinas e Taiwan.

O evento **MON 88017** foi aprovado pela CTNBio para cultivo comercial no Brasil (Extrato de Parecer Técnico nº 2764/2010, publicado no D.O.U. em 17/12/2010).

O evento **TC1507** foi aprovado pela CTNBio para cultivo comercial no Brasil (Extrato de Parecer Técnico Nº1679/2008, publicado no D.O.U. em 15/12/2008), e possui aprovações nos Estados Unidos, Argentina, Austrália, Canadá, China, Colômbia, El Salvador, União Europeia, Japão, Coreia, México, Filipinas, África do Sul e Taiwan.

O milho portador do evento **DAS-59122-7 foi submetido** à aprovação da CTNBio para cultivo comercial no Brasil, e possui aprovações nos Estados Unidos, Austrália, Canadá, China, Colômbia, União Europeia, Japão, Coreia, México, Filipinas, Singapura e Taiwan.

O evento combinado MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 possui aprovações nos Estados Unidos, Canadá, Colômbia, União Europeia, Japão, Coreia, México, Filipinas, África do Sul, e Taiwan.

V - Aspectos relacionados à Saúde Humana e dos Animais

Análise de expressão de proteínas: Foi conduzido um estudo de expressão de proteína em um controle não transgênico (Isohíbrido) e em híbridos de milho contendo os genes *cry1A.105* e *cry2Ab2* (evento MON 89034); *cry1F* e *pat* (evento TC1507); *cry3Bb1* e *cp4 epsps* (evento MON 88017); *cry34Ab1*, *cry35Ab1* e *pat* (evento DAS-59122-7), durante a safra 2012 em quatro ensaios localizados em Indianópolis (MG), Montividiu (GO), Cravinhos (SP) e Palotina (PR), processo no.

01200.000034/2011-71, aprovado pela CTNBio. Este relatório resumiu os níveis de expressão das proteínas CRY1A.105 e CRY2Ab2 (evento MON 89034); CRY1F e PAT (evento TC1507); CRY3Bb1 e CP4 EPSPS (evento MON 88017) e CRY34Ab1, CRY35Ab1 e PAT (evento DAS-59122-7), em tecidos de folha, planta inteira, raiz, pólen, forragem e grão de milho provenientes do Iso-híbrido e dos milhos MON 89034, MON 88017, TC1507, DAS-59122-7 e MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 (SmartStax). As proteínas solúveis extraídas foram mensuradas utilizando o método quantitativo de enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) em folha, polén, raiz, forragem, planta inteira e grão de milho. Os resultados apresentaram a presença da proteína na ordem de ng/mg PS de tecido. Também os eventos combinados produzidos por cruzamentos clássicos dos eventos singulares apresentaram resultados similares quanto à expressão das mesmas proteínas nos eventos simples. Também foi demonstrado que nas gerações de retrocruzamentos manteve-se segregação mendeliana da linhagem de milho.

Descrição dos efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos: as observações ao longo da introgressão dos eventos TC1507, DAS-59122-7, MON 89034 e MON 88017, em linhagens para futura síntese de híbridos combinados MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7, indicaram que a inserção dos genes *cry1F*, *pat*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *cry3Bb1* e **cp4 epsps** não produziu alterações na morfologia das plantas quanto as características agrônômicas, reprodutivas e na composição química e nutricional dos grãos e da forragem indicando ausência de interações dos genes exógenos introduzidos e os genes endógenos do genoma receptor. Estudos realizados nos EUA e no Brasil envolveram a análise de caracteres fenotípicos, agrônômicos, de composição de nutrientes do efeito do milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 em características químicas e físicas do solo, da degradabilidade da matéria orgânica das plantas no solo e do efeito das plantas transgênicas no estado nutricional das plantas. Em todos esses estudos, não foi detectada nenhuma diferença significativa entre o milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 e seu

controle convencional de mesmo *background* genético, que poderia indicar a ocorrência de interações dos genes inseridos no milho combinado e demais genes do genoma com surgimento de efeitos pleiotrópicos e epistáticos detectáveis.

Grau de estabilidade genotípica, especificando a metodologia e o número de gerações avaliadas: A estabilidade fenotípica do evento combinado MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 foi demonstrada por várias gerações ao longo do processo de conversão por cruzamentos clássicos das linhagens parentais no programa de melhoramento. O estudo de padrão de fragmentos da análise de Southern blot do evento combinado também mostrou que é equivalente ao encontrado nos eventos individuais utilizados para a síntese do evento combinado demonstrando a estabilidade genética dos genes presentes nos 4 eventos ao longo de várias gerações. Os vários estudos de análise molecular dos eventos, padrão de segregação e expressão de proteínas dos eventos combinados comparativamente aos eventos simples correspondentes, indicam que os exógenos presentes nos eventos, quer sejam simples ou quer sejam combinados por cruzamentos clássicos, são transmitidos para as gerações de descendentes de forma intacta à semelhança de genes nativos do milho convencional.

Composição química e nutricional do milho DAS-59122-7 comparativamente ao milho

convencional: Um estudo da composição do milho com o evento DAS-59122-7, comparativamente a um milho convencional de mesmo *background* genético, foi realizado no ano de 2010 nas Unidades Operativas de Indianópolis (MG) e de Mogi Mirim (SP) da Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda., processo CTNBio no. 01200.001583/2008-68. O delineamento utilizado em cada experimento foi de blocos casualizados, com 3 (três) repetições. Os tratamentos foram constituídos pelo híbrido 2A120RW contendo o evento DAS-59122-7 e pelo Iso-híbrido 2A120 (não geneticamente modificado), com e sem aplicação de inseticidas. As parcelas experimentais foram constituídas de 36 linhas de plantio com 40 metros de comprimento, com espaçamento de 0,76 m entre linhas e densidade de 5 plantas/metro.

Análise de minerais em grãos de milho: Foram conduzidas as análises em amostras de grãos de milho para os minerais: cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio, selênio, sódio e zinco comparando o milho Iso-híbrido com o milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 (SmartStax). Para análise combinada de locais, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre o milho Iso-híbrido e o milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 (SmartStax). Todos os analitos avaliados estavam dentro das variações descritas na literatura. Selênio e sódio foram excluídos da análise estatística devido a 50% ou mais dos dados estarem abaixo da LOQ.

Análise de ácidos graxos em grãos de milho: Foram conduzidas as análises em amostras de grãos de milho para os ácidos graxos: 8:0 Caprílico, 10:0 Cáprico, 12:0 Láurico, 14:0 Mirístico, 14:1 Miristoleico, 15:0 Pentadecanóico, 15:1 Pentadecenóico, 16:0 Palmítico, 16:1 Palmitoleico, 17:0 Heptadecanóico, 17:1 Heptadecenóico, 18:0 Esteárico, 18:1 Oleico, 18:2 Linoleico, 18:3 Linolênico, 18:3 γ -Linolênico, 20:0, Araquídico, 20:1 Eicosenóico, 20:2 Eicosadienóico, 20:3 Eicosatrienóico, 20:4 Araquidônico e 22:0 Behênico, comparando o milho Iso-híbrido com o milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 (SmartStax). Para análise combinada de locais, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre o Iso-híbrido e o milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 (SmartStax).

A análise composicional de nutrientes, análise centesimal, fibras e minerais, foram conduzidas para investigar a equivalência nutricional entre o milho Iso-híbrido e os milhos MON89034, MON 88017, TC1507, DAS-59122-7 e MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 (SmartStax). Nenhuma diferença estatística significativa para o valor ajustado do FDR (False Discovery Rate) para dados de composição nutricional foi encontrada entre os milhos geneticamente modificados MON 89034, MON 88017, TC1507, DAS-59122-7, MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 (SmartStax) e o milho convencional Iso-híbrido. Adicionalmente, as médias dos resultados das análises de composição permaneceram dentro das variações encontradas na literatura para milho convencional.

Análise de metabólitos secundários nos grãos de milho: Foram determinados os níveis dos metabólitos secundários: inositol, furfural, ácido p-cumárico e ácido ferúlico, em amostras de grão de milho comparando o Iso-híbrido com MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 e com os híbridos de referência. Furfural foi excluído da análise devido a 50% ou mais dos dados estarem abaixo do LOQ. Para análise combinada de locais, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre o Isohíbrido e MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7, exceto para o inositol e p-cumárico que apresentaram valores de P estatisticamente significativos para MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7, porém não significativos para os valores ajustados FDR. Todos os analitos avaliados ficaram dentro das variações descritas na literatura.

Conclusão dos estudos com alimentação animal: Os estudos de impacto do milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 na alimentação de animais monogástricos e ruminantes através do estudo de seus eventos singulares demonstrou total compatibilidade com o extensivo estudo de composição nutricional do milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7. Conclui-se que o milho combinado MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 é tão seguro quanto o milho convencional para a alimentação humana e/ou animal.

A grande margem de exposição e alta ingestão das proteínas do milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 para atingir o nível de efeito não observado (NOEL) na humana e/ou animal em vários países, inclusive no Brasil e os resultados de ensaios de alimentação animal e de estudos toxicológicos com análise de órgãos dos animais, foi possível concluir que o milho combinado MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7, não expressa as proteínas tóxicas ou alergênicas conhecidas, sendo tão seguro para o consumo humano e animal quanto o milho convencional e seus produtos.

Similaridade entre a sequência de aminoácidos das proteínas e de alérgenos conhecidos, através de análise em bioinformática (Guttikonda, 2012e): Desses resultados, foi possível concluir que a probabilidade do milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 ser potencialmente alergênico é muito baixa. Portanto, tão seguro quanto o milho convencional.

VI - AVALIAÇÃO DE RISCO AO MEIO AMBIENTE

Estudos de segurança ambiental foram realizados com o evento combinado MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 em Unidades da Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda. para demonstrar a segurança do produto, em estudos aprovados pela CTNBio. Estes estudos visaram comparar as características do milho geneticamente modificado com o milho convencional de mesmo *background* genético, para permitir uma análise precisa dos efeitos dos genes exógenos na segurança ambiental do produto. Nesses trabalhos, também para evitar efeitos de confusões devido ao fato dos eventos estarem apenas em germoplasma, foram utilizados híbridos comercialmente aprovados e cultivados no país, em ambas as versões, para uma análise comparativa com a qualidade exigida em estudos de biossegurança.

Ensaio comparativo para avaliação de características agronômicas e reprodutivas, bem como do efeito do OGM em comunidade de organismos não alvo, demonstraram que o milho combinado MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 não possui características alteradas com potencial de se tornar uma planta daninha e/ou silvestre.

Esses estudos demonstraram não haver diferenças significativas na viabilidade das sementes, germinação, vigor das plantas, florescimento, arquitetura das plantas e resposta aos principais patógenos entre o milho GM e o controle.

Nesse trabalho comparativo de segurança ambiental, também não foi detectado, nos ambientes estudados, nenhum efeito adverso que pudesse ser detectado com a metodologia utilizada na comunidade de artrópodes não alvo.

Os ensaios de campo demonstraram, também, que as características de sobrevivência desses eventos são comparáveis àquelas do milho convencional, bem como demonstrado que é improvável que ocorra o cruzamento sexual do milho geneticamente modificado com espécies exóticas compatíveis no Brasil. Os estudos que validam a segurança ambiental do milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7, bem como de seus eventos simples, para demonstrar que as características do evento combinado obtido por meio de cruzamentos genéticos clássicos dos eventos simples não diferem dos mesmos atributos dos eventos simples.

A possibilidade de hibridização introgressiva do milho com espécies selvagens sexualmente compatíveis é praticamente nula, uma vez que não são encontradas no Brasil.

As espécies mais estreitamente relacionadas com o milho são os teosintes (*Zea mays* spp., *Zea luxurians* e *Zea diploperennis*). São gramíneas silvestres que se encontram em algumas regiões do México e da Guatemala e se cruzam naturalmente com o milho, produzindo descendentes férteis. No Brasil não se observa a ocorrência natural de espécies de teosinte, existindo apenas espécies do gênero *Tripsacum*, parente mais distante do milho.

Estudos de impacto do milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7 nos organismos não alvo: As proteínas CRY2Ab2, CRY3Bb1, CRY1A.105, CRY1F, CRY34Ab1 e CRY35Ab1 do milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7, como será demonstrado a seguir, não causam efeitos adversos sobre diferentes organismos presentes no meio ambiente, sendo tão seguro quanto o milho convencional.

Os artrópodes não alvo identificados e quantificados na área de estudo de Indianópolis (MG) foram todos predadores: os percevejos *Orius* sp. (Hemiptera: Anthocoridae), *Nabis* sp. (Hemiptera: Nabidae) e *Geocoris* sp. (Hemiptera: Lygaeidae); a joaninha *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae); o crisopídeo *Hemerobius* sp. (Neuroptera: Chrysopidae); a tesourinha *Doru luteipes* (Dermaptera: Forficulidae); o carabídeo *Lebia concinna* (Coleoptera: Carabidae); e a aranha *Chiracantium* sp. (Araneae: Clubionidae). A tesourinha *D. luteipes* foi a espécie mais abundante, predominando sobre as demais, com 72,0% do total encontrado; seguida pela aranha *Chiracantium* sp., com 7,4%; pelo percevejo *Orius* sp., com 5,9%; e pelo crisopídeo *Hemerobius* sp., com 5,2%.

O evento transgênico tem características de susceptibilidade às pragas e às doenças definidas pela herança genética dos híbridos convencionais que os originaram.

Os resultados das comparações de sequências entre as proteínas CRY1F, CRY34Ab1, CRY35Ab1 e PAT e as proteínas do banco de dados BLASTp confirmaram a inexistência de similaridade entre essas proteínas e qualquer outra proteína considerada tóxica que são prejudiciais aos seres humanos ou aos animais, com exceção para os cristais de proteínas relacionadas com os bioinseticidas do evento SmartStax.

Capacidade de dispersão de pólen: A dispersão do milho MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7, à semelhança do milho convencional, é feita através de sementes, e não por regeneração natural à partir de tecido vegetativo. Pode também ocorrer através de fluxo gênico, pela disseminação de pólen sob ação da velocidade e direção dos ventos.

A dispersão das sementes do milho somente ocorre através da intervenção do homem, pois precisam ser retiradas dos sabugos (debulha) e introduzidas no solo, em pequenas quantidades, para poder desenvolver toda sua estrutura reprodutiva.

As sementes de milho não apresentam dormência e estão aptas para germinação logo após o momento da maturação fisiológica (32% a 35% de umidade). Em condições de campo, perdem rapidamente o poder germinativo quando expostas, na superfície do solo, à umidade e alta temperatura.

O milho é uma planta alógama com cerca de 90% de taxa de cruzamento, de forma que a disseminação dos genes ocorre por polinização cruzada para uma planta geneticamente compatível.

Efeito sobre Truta: Experimento com 30 trutas expostas por 8 dias sendo 10 em cada uma das 3 repetições, alimentados diariamente com dieta padrão de peixes contendo 100 mg da proteína CRY1F/Kg de dieta. Como controle, foi utilizado 30 peixes divididos igualmente em 3 repetições, alimentados com dieta contendo milho não GM. Os peixes foram pesados antes do teste e avaliados por um período de 8 dias. Os peixes eram observados a cada 24 horas, anotando-se a mortalidade e efeitos sub-letais que poderiam ocorrer devido à exposição à proteína inseticida, não se verificando efeito sobre os animais testes.

Efeito sobre vespas parasitas de larvas de insetos: Não foram identificadas diferenças significativas nas taxas de mortalidade, na aparência ou no comportamento dos indivíduos tratados com água açucarada adicionada de proteínas do evento transgênicas, quando comparados aos indivíduos tratados apenas com água açucarada.

Efeito sobre lagartas e *Diabrotica speciosa*: Estudou-se a eficiência de milhos híbridos geneticamente modificados com os eventos TC1507, DAS-59122-7, MON 89034 e MON 88017 no controle das lagartas *Agrotis* sp., *Elasmopalpus lignosellus*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania*, *Diatraea saccharalis* e *Helicoverpa zea* e do coleóptero *Diabrotica speciosa*. Esses estudos fazem parte do plano de liberação planejada, processo no. 01200.000168/2009-78, aprovado pela CTNBio. Foram conduzidos 3 experimentos nas Unidades Operativas de Cravinhos (SP), Indianópolis (MG) e Castro (PR), em delineamento de blocos casualizados, com 10 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos consistiram nos híbridos (1) híbrido PowerCore com o evento MON 89034 x TC1507 x DAS-59122-7; (2) MON 88017 com o evento MON 88017, com aplicação de inseticidas, (3) SmartStax com o evento MON 89034 x MON 88017 x TC1507 x DAS-59122-7, (4) Herculex RW com o evento DAS-59122-7, com aplicação de inseticidas, (5) Herculex com o evento TC1507, (6) VT Pro com o evento MON 89034, (7) Iso-híbrido, controle não geneticamente modificado, com aplicação de inseticidas, (8) Iso-híbrido sem aplicação de inseticidas, (9) híbrido comercial convencional com aplicação de inseticidas e (10) híbrido comercial convencional sem aplicação de inseticidas. As plantas geneticamente modificadas, que expressam toxinas para lepidópteros, PowerCore e SmartStax (CRY1F, CRY1A.105 e CRY2Ab2), Herculex (CRY1F) e VT Pro (CRY1A.105 e CRY2Ab2), apresentaram bom controle de *S. frugiperda* em folhas, reduzindo significativamente os danos.

VII - Parecer:

- Considerando que a variedade de milho evento MON89034xMON88017xTC1507xDAS-59122-7 pertence a espécie bem caracterizada e com sólido histórico de segurança para consumo humano;
- Considerando que as proteínas CRY2Ab2, CRY1A.105, CRY3Bb1, CRY1F, CRY34Ab1, e CRY35Ab1 que conferem resistência a insetos e as proteínas EPSPS, e PAT que conferem tolerância aos herbicidas glifosato e glufosinato de amônio são expressas em vários eventos de diferentes culturas agrícolas já submetidas à avaliação de risco e aprovados para uso comercial em diversos países;
- Considerando que os parentais, evento, MON89034, MON88017, TC1507 foram submetidos à análise de avaliação de risco pela CTNBio e obtiveram parecer favorável para sua liberação comercial, exceto DAS 59122-7 que foi analisado no evento piramidado;

- Considerando a caracterização molecular, os dados apresentados sobre o evento individual DAS-59122-7 e o Parecer da CIBio que corroboram a afirmativa sobre a segurança dos genes inseridos e proteínas expressas nesse evento
- Considerando que o desenvolvimento do evento MON89034xMON88017xTC1507xDAS-59122-7 ocorreu através de melhoramento genético clássico e que a caracterização molecular, a análise da expressão das proteínas, a análise composicional e as avaliações agronômicas e fenotípicas não demonstraram evidências de haver qualquer interação entre os insertos presente o evento combinado;

A CTNBio deliberou **favoravelmente** ao pedido da requerente baseada na avaliação de risco do evento combinado MON89034xMON88017xTC1507xDAS-59122-7, feita conforme determinado nos Art. 3º e 4º da Resolução Normativa no. 5/2008 e considerando que a solicitação da empresa Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia, processo no. 01200.002046/2013-01, para liberação comercial de milho geneticamente modificado evento combinado MON89034xMON88017xTC1507xDAS-59122-7, atende às normas e à legislação pertinente que visam garantir a bissegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

A CTNBio considerou ainda que **na elaboração do Plano de Monitoramento, as seguintes recomendações devem ser incluídas:**

- Elaboração de um programa de gestão responsável, incluindo a adoção de medidas que visam o manejo da resistência e uso responsável do produto;
- Clareza na identificação e descrição dos organismos alvo do controle e eficiência desse controle para informação do agricultor;
- Programas educativos para distribuidores e agricultores, visando o uso adequado da tecnologia;
- Monitoramento visando a avaliação do desenvolvimento da resistência nas diferentes regiões do país onde a tecnologia for adotada;
- Análise dos impactos da introdução da tecnologia e a preconização de medidas mitigatórias

Restrições ao uso do OGM e seus derivados

Conforme estabelecido no art. 1º da Lei nº 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, exceto nas Áreas de Proteção Ambiental”.

VIII - Bibliografia consultada

AgBios. (2008). Databa.e product description.ACS-ZMØØ2-1 / ACS-ZMØØ3-2 (T14, T25). Disponível em: <http://www.agbios.com/dbase.php?action=ShowProd&data=T14%2C+T25&format=SHORT>, Acesso em: 06/01/2015

Borém, A. (1999). Escape gênico: os riscos do escape gênico da soja no Brasil. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, v.10, p.101-107, 1999.

Broder, M. W. & Wagner, G. H. (1988). Microbial colonization and decomposition of corn, wheat, and soybean residue. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52:112-117, 1988.

Bruulsema, T. W.; Christie, B. R. (1987). Nitrogen contribution to succeeding corn from alfalfa and red clover. *Agronomy Journal*, v.79, p.96-100, 1987.

Calgene, Inc. (1993). Food additive petition for the APH(3') II as a processing aid FDA Docket Number: 93F-0232, 1993.

Connor, A. J.; Glare, T. R.; Nap, J. P. (2003) The release of genetically modified crops into the environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. *The Plant Journal* 33:19-46.

Cruz, M. C. P.; Ferreira, M. E.; Gravena, R.; Cordioli, V. H.; Guimarães, J. R. D. O.; Amorim, L. C. S. (2011a). Impacto da soja geneticamente modificada contendo o evento DAS-68416-4 em características físico-químicas do solo e concentração de nutrientes nas folhas. Gravena / UNESP / Dow AgroSciences. Relatório não publicado.

Cruz, M. C. P.; Ferreira, M. E.; Gravena, R.; Cordioli, V. H.; Guimarães, J. R. D. O.; Amorim, L. C. S. (2011b). Decomposição da soja geneticamente modificada contendo o evento DAS-68416-4 em condições de campo. Gravena / UNESP / Dow AgroSciences. Relatório não publicado.

Derpsch, R.; Calegari, A. (1985). Guia de plantas para adubação verde de inverno. Londrina, Instituto Agrônomo do Paraná, 1985. 96p. (Documentos IAPAR, 9)

EPA documentos relativos à petição para revogar o uso de 2,4-D (2012):

<http://www.regulations.gov/#!docketDetail;dct=FR+PR+N+O+SR;rpp=25;po=0;D=EPA-HQ-OPP-2008-0877>

EPA documentos relativos à petição para revogar o uso de 2,4-D (2014):

http://www.epa.gov/oppfead1/cb/csb_page/updates/2014/enlist-duo.html

FDA. (1994). Food and Drug Administration, Secondary Direct Food Additives Permitted in food for Human Consumption; Food Additives Permitted in Feed and Drinking Water of Animals Aminoglycoside 3' -phosphotransferase II. Federal Register 59:26700-26711, 1994

FDA. (1992). Fed Reg Vol. 66, No 12, page 4720.

Fukuzawa H, Arai S, Kawai-Yamada M, Das A, Tagawa M, Uchimiya H. Glufosinate-tolerant tobacco plants directed by the promoter of adenylate kinase gene of rice. *Ann Bot.* 2002 Mar;89(3):351-4.

Hawkes T, Pline-Srnic W, Dale R, Friend E, Hollinshead T, Howe P, Thompson P, Viner R, Greenland A. D-glufosinate as a male sterility agent for hybrid seed production. *Plant Biotechnol J.* 2011 Apr;9(3):301-14.

Heinzmann, F. X. (1985). Resíduos culturais de inverno e assimilação de nitrogênio por culturas de verão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.20, p.1021-1030, 1985.

Herman RA, Fast BJ, Johnson TY, Sabbatini J, Rudgers GW. Compositional safety of herbicide-tolerant DAS-81910-7 cotton. *J Agric Food Chem.* 2013 Nov 27;61(47):11683-92.

Herman RA, Dunville CM, Juberg DR, Fletcher DW, Cromwell GL. Performance of broiler chickens fed diets containing DAS-68416-4 soybean meal. *GM Crops.* 2011. Jun-Dec;2(3):169-75.

Hérouet C, Esdaile DJ, Mallyon BA, Debruyne E, Schulz A, Currier T, Hendrickx K, van der Klis RJ, Rouan D. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2005;41(2):134-49.

Hirose Y, Kobayashi M, Koyama K, Kohda Y, Tanaka T, Honda H, Hori Y, Yoshida K, Kikuchi M. (1999) A toxicokinetic analysis in a patient with acute glufosinate poisoning. *Hum Exp Toxicol.* 18:305-8.

ISAAA - <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=254>, acessado em abril de 2015.

Jayaraj J, Devlin R, Punja Z. Metabolic engineering of novel ketocarotenoid production in carrot plants. *Transgenic Res.* 2008 Aug;17(4):489-501.

Jiang L, Qu F, Li Z, Doohan D. Inter-species protein trafficking endows dodder (*Cuscuta pentagona*) with a host-specific herbicide-tolerant trait. *New Phytol.* 2013 Jun;198(4):1017-22.

Lepping MD, Herman RA, Potts BL. Compositional equivalence of DAS-44406-6 (AAD-12 + 2mEPSPS + PAT) herbicide-tolerant soybean and nontransgenic soybean. *J Agric Food Chem.* 2013 Nov 20;61(46):11180-90.

Lehamnn, R. M.; Osborne, S. L.; Rosentrater, K. A. (2008). No Differences in decomposition rates observed between *Bacillus thuringiensis* and non-*Bacillus thuringiensis* corn residue incubated in the field. *Agronomy Journal*, v.100, p.163–168, 2008.

Mishutkina IaV, Kamionskaia AM, Skriabin KG. [Generation of sugar beet transgenic plants expressing bar gene]. *Prikl Biokhim Mikrobiol.* 2010 Jan-Feb;46(1):89-95. Russian.

Mohr KI, Tebbe CC. Field study results on the probability and risk of a horizontal gene transfer from transgenic herbicide-resistant oilseed rape pollen to gut bacteria of bees. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2007 Jun;75(3):573-82. Peterson JM. Herbicide resistance screening assay. *Methods Mol Biol.* 2009;526:137-46.

Müller, R. H.; Jorks, S.; Kleinstauber, S.; Babel, W. (1999). *Comamonas acidovorans* strain MC1: a new isolate capable of degrading the chiral herbicides dichlorprop and mecoprop and the herbicides 2,4-D and MCPA. *Microbiological Research* 154:241-246.

[Nagami H](#), [Nishigaki Y](#), [Matsushima S](#), [Matsushita T](#), [Asanuma S](#), [Yajima N](#), [Usuda M](#), [Hirosawa M](#). (2005) Hospital-based survey of pesticide poisoning in Japan, 1998—2002. *Int J Occup Environ Health.* 11:180-4.

OECD. (1999). Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to fosfotricina herbicide. Organisation for Economic Co-operation and Development,

Paris, 1999.

OECD. (2001). Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Soybean: Key Food and Feed Nutrients and Anti-Nutrients, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, France. ENV/JM/MONO(2001)15, [http://www.olis.oecd.org/olis/2001doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono\(2001\)15](http://www.olis.oecd.org/olis/2001doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono(2001)15)

Prins, T. W. & Zadoks, J. C. (1994). Horizontal gene transfer in plants, a biohazard? Outcome of a literature review. *Euphytica* 76:133-138. 1994

Ramachachandra Rao, S. and Ravishankar, G. A. (2000). Vanilla Flavor: Production by Conventional and Biotechnological Routes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:289-304.

Rasco-Gaunt S, Liu D, Li CP, Doherty A, Hagemann K, Riley A, Thompson T, Brunkan C, Mitchell M, Lowe K, Krebbers E, Lazzeri P, Jayne S, Rice D. Characterisation of the expression of a novel constitutive maize promoter in transgenic wheat and maize. *Plant Cell Rep.* 2003 Feb;21(6):569-76.

Ren Y, Lv J, Wang H, Li L, Peng Y, Qu LJ. A comparative proteomics approach to detect unintended effects in transgenic Arabidopsis. *J Genet Genomics.* 2009 Oct;36(10):629-39.

Ryffel GU. Transgene flow: Facts, speculations and possible countermeasures. *GM Crops Food.* 2014 Oct 2;5(4):249-58.

Redenbaugh, K.; Hiatt, W.; Martineau, B.; Linfrman. J. & Emlay, D. (1994). Aminoglycoside 3'phosphotransferase II (aph (3')II): riviw of its safety and use the production of genetically engineered plants. *Food Biotechnology* 8 137-165, 1994

Santos, P. F.; Whitford, W. G. (1981). The effects of microarthropods on litter decomposition in a Chihuahuan desert ecosystem. *Ecology*, v.62, p.654-663, 1981.

Schlüter, K.; Futterer, J. & Potrykus, I. (1995). "Horizontal" gene transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia chrysanthemi*) occurs - if et all - at an extremely low frequency. *Bio/Technology* 13:1094-1098. (1995).

Sediyama, T.; Cardoso, A. A.; Vieira, C.; Andrade, D. (1970). Taxa de hibridação na- tural em soja, em

Viçosa e em Capinópolis, Minas Gerais. Revista Ceres 17: 229-331

Sediyama, T.; Teixeira, R. C. & Reis, M. S. (1999). Melhoramento da soja. In: Borém, A. (ed.) Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa: Editora UFV. 808p.

Shetty, K.; Paliyath, G.; Pometto, A.; Levin, R. E. (2006). Food Biotechnology, CRC Press, ISBN 0824753291, pp. 1672-1673.

Siqueira, J. O.; Franco, A. A. (1988). Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas. Brasília, Ministério da Educação e Cultura, 1988. 236p.

Schulte-Hermann R, Wogan GN, Berry C, Brown NA, Czeizel A, Giavini E, Holmes LB, Kroes R, Nau H, Neubert D, Oesch F, Ott T, Pelkonen O, Robert-Gnansia E, Sullivan FM. Analysis of reproductive toxicity and classification of glufosinate-ammonium. Regul Toxicol Pharmacol. 2006;44(3 Suppl 1):S1-76.

Shipitalo MJ, Malone RW, Owens LB. Impact of glyphosate-tolerant soybean and glufosinate-tolerant corn production on herbicide losses in surface runoff. J Environ Qual. 2008;37(2):401-8.

Song WO, Chun OK, Hwang I, Shin HS, Kim BG, Kim KS, Lee SY, Shin D, Lee SG.(2007) Soy isoflavones as safe functional ingredients. J Med Food. 10:571-80.

Tamaoka, J.; Ha, D. M.; Komagata, K. (1987). Reclassification of *Pseudomonas acidovorans* den Dooren de Jong 1926 and *Pseudomonas testosteroni* Marcus and Talalay 1956 as *Comamonas acidovorans* comb. nov. and *Comamonas testosteroni* comb. nov.; with an emended description of the genus *Comamonas*. International Journal of Systematic Bacteriology 37:52-59.

Toms, A.; Wood, J. M. (1970). The Degradation of trans-Ferulic Acid by *Pseudomonas acidovorans*. Biochemistry 9:337-343.

Van Wert, S. L. (1994). USDA - APHIS Petition for Determination of Nonregulated Status: Glufosinate Resistant Corn Transformation Events T14 and T25. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC. USDA #94-357-01p, 1994.

Wen, A.; Fegan, M.; Hayward, C.; Chakraborty, S.; Sly, L. I. (1999). Phylogenetic relationships among

members of the Comamonadaceae, and description of *Delftia acidovorans* (den Dooren de Jong 1926 and Tamaoka et al.; 1987. gen. nov.; comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49:567-576.

Westendorf, A.; Benndorf, D.; Muller, R.H.; Babel, W. (2002). The two enantiospecific dichlorprop/*f*₂-ketoglutarate-dioxygenases from *Delftia acidovorans* MC1 from protein and sequence data of RdpA and SdpA. *Microbiol. Res.* 157:317-22.

Westendorf, A.; Muller, R. H.; Babel, W. (2003). Purification and characterization of the enantiospecific dioxygenases from *Delftia acidovorans* MC1 initiating the degradation of phenoxypropionates and phenoxyacetate herbicides. *Acta Biotechnol.* 23: 3-17.

Wright, T. R.; Lira, J. M.; Merlo, D. J., Hopkins, N. (2005). Dow AgroSciences LLC. Novel Herbicide Resistance Genes. U.S. Patent Application Publication # WO/2005/107437.

Wright, T. R.; Lira, J. M.; Walsh, T.; Merlo, D. J.; Jayakumar, P.; Lin, G. (2007). Novel Herbicide Resistance Genes. World Intellectual Property Organization International Publication Number WO 2007/053482 A2

Wright TR, Shan G, Walsh TA, Lira JM, Cui C, Song P, Zhuang M, Arnold NL, Lin G, Yau K, Russell SM, Cicchillo RM, Peterson MA, Simpson DM, Zhou N, Ponsamuel J, Zhang Z. Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Nov 23;107(47):20240-5.

WHO. (1993). Health Aspects of Marker Genes in Genetically Modified Plants. World Health Organization Food Safety, Geneva, Switzerland, 32 pp. 1993.

Wohlleben et al., (1992) Identification and characterization of phosphinothricin-tripeptide biosynthetic genes in *Streptomyces viridochromogenes*. *Gene* 115:127-132.

Zech, W.; Senesi, N.; Guggenberger, G; Kaiser, K.; Lehmann, J.; Milano, T. M.; Miltner, A; Schroth, G. (1997). Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, v.79, p.117-161, 1997.

IX - Votos Contrários:

Votaram pelo indeferimento da Proposta:

- Karen Friedrich – Representante do Ministério do Desenvolvimento Agrário.
- Rogério Marcos Magalhães – Representante do Ministério do Meio Ambiente.

Brasília, DF, 28/07/2016

Edivaldo Domingues Velini

Presidente da CTNBio

Assessor: Gutemberg D. Sousa



Documento assinado eletronicamente por **Edivaldo Domingues Velini, Pesquisador**, em 19/01/2017, às 07:34, conforme art. 3º, III, "b", das Portarias MC nº 89/2014 e MCTIC nº 34/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <http://sei.mc.gov.br/verifica.html> informando o código verificador **1625073** e o código CRC **5B57DDD2**.

Referência: Processo nº 01200.002046/2013-01

SEI nº 1625073