

PARECER TÉCNICO Nº 4763/2015

Processo nº: 01200.001179/2013-51

Total de peças: 219

Protocolo nº: 10279 de 21/3/2013

Requerente: Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda

CQB: 107/99

CNPJ: 08.636.452/0001-76

Endereço: Avenida das Nações Unidas, 14171, 2º andar, Edifício Diamond Tower, Santo Amaro, São Paulo - SP

Presidente da CIBio: Mário Von Zuben

Resolução Normativa: RN 05/2008

Extrato Prévio: 3596/2013, publicado em 14/5/2013

Reunião: 186ª Reunião ordinária, ocorrida em 8 de outubro de 2015

Decisão: DEFERIDO

Título da proposta: “RELATÓRIO DE BIOSSEGURANÇA DO MILHO DAS-40278-9 x NK603”

I. FUNDAMENTAÇÃO TÉCNICA

Finalidade (objetivo): Liberação comercial do milho DAS-40278-9 x NK603 e seus derivados

Uso Proposto: liberação no meio ambiente, cultivo, produção, manipulação, transferência, transporte, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo e descarte deste OGM e seus derivados para fins comerciais.

Identificação do OGM

- **Designação do OGM:** Milho DAS-40278-9 x NK603
- **Espécie:** *Zea mays* L.
- **Característica Inserida:** tolerância a herbicidas
- **Classificação do OGM:** Classe de Risco 1

Proteínas Expressas:

- CP4-EPSPS – confere tolerância ao herbicida glifosato;
- AAD-1 - confere tolerância aos herbicidas 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxiacético), ariloxifenoxipropionato (AOPP) e a determinados herbicidas inibidores da enzima acetil coenzima A carboxilase (ACCase), denominados herbicidas “fop”.

1. Solicitação

A empresa DOW AGROSCIENCES SEMENTES & BIOTECNOLOGIA BRASIL LTDA solicita à CTNBio a análise da biossegurança do milho geneticamente modificado evento DAS-40278-9 x NK603, considerado pela proponente como de Nível de Biossegurança 1 para efeito de sua liberação comercial no Brasil.

A finalidade da solicitação é para liberação no meio ambiente, cultivo, produção, manipulação, transferência, transporte, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo e descarte deste OGM e seus derivados para fins comerciais.

O milho DAS-40278-9 x NK603 expressa a proteína CP4 EPSPS, que confere tolerância ao herbicida glifosato, e a proteína AAD-1, que confere tolerância aos herbicidas 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxiacético), ariloxifenoxipropionato (AOPP) e a determinados herbicidas inibidores da enzima acetil coenzima A carboxilase (ACCase), denominados herbicidas “fop”.

O milho DAS-40278-9 x NK603 foi obtido por meio de cruzamentos entre os milhos DAS-40278-9 e NK603, ambos já aprovados pela CTNBio para plantio comercial no Brasil. Trata-se, portanto, de um evento piramidado obtido por cruzamento clássico entre dois eventos GM já analisados quanto à biossegurança pela CTNBio e aprovados.

Estudos a campo, conduzidos com autorização da CTNBio, demonstraram a eficácia e praticabilidade agrônômica do uso do milho DAS-40278-9 x NK603 em condições de cultivo no Brasil.

Este produto não difere do milho convencional em sua composição química e nutricional, exceto pela presença e expressão dos genes *cp4 epsps* e *aad-1*, os quais conferem tolerância aos herbicidas glifosato e herbicidas da família ariloxialcanoato, respectivamente.

O cultivo do milho DAS-40278-9 x NK603 e o consumo da planta ou de seus derivados não causam efeitos adversos ao meio ambiente ou à saúde humana e animal, sendo tão seguro quanto o milho convencional, com o qual apresenta equivalência substancial. As proteínas CP4 EPSPS e AAD-1, codificadas pelos genes *cp4 epsps* e *aad-1*, respectivamente, não apresentam similaridade com proteínas conhecidamente alergênicas ou tóxicas. O milho DAS-40278-9 x NK603, à semelhança do milho convencional, não exhibe tendência a proliferar-se como planta daninha e não é invasivo em ecossistemas naturais. Nenhuma vantagem competitiva para a sobrevivência ou dispersão do milho é proporcionada pelos genes *cp4 epsps* e *aad-1* introduzidos no milho GM, quando comparado ao milho convencional.

2. Aprovações regulatórias do milho DAS-40278-9 x NK603

A biossegurança do milho DAS-40278-9 x NK603, objeto da solicitação, já foi analisada por órgãos análogos à CTNBio de outros países, tendo sido aprovado no Canadá, Coreia do Sul, Japão, México e Taiwan, como mostrado na Tabela abaixo.

País	Plantio	Ração Animal	Alimentação Humana
Canadá ¹	2013	2013	
Coreia do Sul ²		2015	2015
Japão ³	2013	2013	2013
México ^{4,5}		2013	2013
Taiwan ^{4,6}			2013

¹<http://www.inspection.gc.ca/plants/plants-with-novel-traits/approved-under-review/decision-documents/dd-2012-92/eng/1362599848427/1362600537809>

²<http://www.biosafety.or.kr/english/decisions/decisions.asp?schOrganism=Maize&eventKeyWord=&x=31&y=6>

³http://www.bch.biodic.go.jp/english/lmo_2013.html

⁴<http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=348>

⁵<http://bch.cbd.int/database/record.shtml?documentid=105906>

⁶<http://bch.cbd.int/database/record.shtml?documentid=106395>

A solicitação é acompanhada de um Relatório de Biossegurança, de 425 páginas, contendo: Sumário executivo, Proposta de monitoramento pós-comercial (Anexo I), Informações relativas ao OGM (Anexo II), Avaliação de risco à saúde humana e animal (Anexo III), Avaliação de risco ao meio ambiente (Anexo IV), Referências bibliográficas e dois Apêndices (I e II).

O plano de monitoramento pós-liberação comercial está de acordo com a Resolução Normativa Nº 9 da CTNBio, de 2 de dezembro de 2011 e está bem detalhado.

II. DESCRIÇÃO DO OGM

2.1 Milho DAS-40278-9

O milho DAS-40278-9 x NK603 foi obtido por meio de cruzamentos entre os milhos DAS-40278-9 e NK603, ambos já aprovados pela CTNBio para plantio comercial no Brasil. O milho DAS-40278-9 foi aprovado pela CTNBio em março de 2015 e já foi aprovado também em outros 10 países (África do Sul, Austrália, Canadá, Colômbia, Coreia do Sul, Estados Unidos da América, Japão, México, Nova Zelândia e Taiwan), seja para plantio, ração animal ou alimentação humana.

O milho DAS-40278-9 foi obtido pela inserção de uma versão sintética do gene *aad-1v3* da bactéria *Sphingobium herbicidorovans* (*Sphingomonas herbicidorovans*), uma bactéria gram-negativa encontrada naturalmente no solo. O gene *aad-1v3* teve sua sequência de nucleotídeos otimizada para expressar em plantas de milho a enzima ariloxialcanoato dioxigenase (AAD-1) sem, entretanto, alterar sua sequência de aminoácidos. Assim, a proteína AAD-1 expressa pelo evento DAS-40278-9 tem sequência de aminoácidos idêntica à proteína AAD-1 nativa de *Sphingobium herbicidorovans*, que contem 296 aminoácidos e apresenta massa molecular de aproximadamente 33 kDa. A enzima AAD-1 é capaz de degradar o herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) em 2,4-diclorofenol (2,4-DCP), que não tem atividade herbicida (Wright *et al.*, 2009, Wright *et al.*, 2010). Assim, plantas contendo o gene *aad-1v3* de *S. herbicidorovans* apresentam tolerância ao herbicida 2,4-D, molécula que atua como uma auxina. A enzima AAD-1 também é capaz de catalisar a degradação de herbicidas da classe geral dos ariloxifenoxipropionatos (AOPPs), como o haloxifope-R e quizalofope, aos seus correspondentes fenóis inativos (Wright *et al.*, 2009, Wright *et al.*, 2010), o que confere à planta GM tolerância a estes herbicidas. Os AOPPs atuam como inibidores da via de biossíntese de lipídeos em gramíneas, inibindo a isoforma da enzima acetil coenzima A carboxilase (ACCase) presente no cloroplasto (Délye *et al.*, 2005). Portanto, o milho DAS-40278-9 apresenta tolerância ao herbicida 2,4-D e a determinados herbicidas da classe dos ariloxifenoxipropionatos porque expressa a enzima ariloxialcanoato dioxigenase (AAD-1) da bactéria de solo *Sphingobium herbicidorovans*. Portanto, esta enzima já se encontra presente naturalmente no solo.

Assim como outras bactérias presentes no solo, a *Sphingobium herbicidovorans* desenvolveu a capacidade de usar a fenóxi auxina e herbicidas AOPPs como fontes de carbono para seu desenvolvimento (Hinteregger e Streichsbier, 2004), o que lhe confere uma vantagem competitiva no solo (Wright *et al.*, 2009). Bactérias do gênero *Sphingomonas* são amplamente distribuídas na natureza e foram isoladas de *habitats* terrestres e aquáticos, assim como de sistemas radiculares de plantas. Devido à sua capacidade biodegradativa e biosintética, as *Sphingomonas* são usadas em uma grande variedade de aplicações biotecnológicas, incluindo biorremediação de contaminantes ambientais e produção de polímeros extracelulares, como esfinganas, que são amplamente utilizados na indústria alimentícia (Bower *et al.*, 2006; Lal *et al.*, 2006).

O gene *aad-1* foi introduzido na linhagem de milho Hi-II via transformação genética mediada por fibras *whiskers* de carbeto de silício. O evento DAS-40278-9 apresenta as seguintes características:

- contém uma única cópia intacta do cassete de expressão do gene *aad-1* da bactéria de solo *Sphingobium herbicidorovans*, que está integrada de forma estável (5 gerações) em um único local do genoma, sem nenhuma outra sequência do vetor presente;
- o tipo de herança da nova característica é segregação mendeliana monofatorial;
- expressa a proteína ADD-1 em todas as partes da planta que foram analisadas, sendo que a maior expressão ocorre no pólen e a menor expressão ocorre na raiz, grãos e planta inteira. A pulverização com os herbicidas 2,4-D e quizalofop não alteraram os valores de expressão;
- As plantas GM contendo o evento DAS-40278-9, bem como seus derivados, podem ser identificados através de métodos moleculares de detecção como a PCR ou o *Southern Blot*. A presença da proteína AAD-1 pode ser detectada através de teste de ELISA com kits de detecção disponíveis no mercado;

2.2. Milho NK603

O milho NK603 já foi aprovado pela CTNBio para uso comercial no Brasil em 2008. Atualmente está aprovado em 26 países: em 23 deles como alimento, em 18 como ração e em 13 para plantio (<http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=86>; acessado em outubro de 2015). Este evento contém o gene *cp4 epsps* da *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4, que codifica a enzima CP4 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (CP4 EPSPS), que confere tolerância ao herbicida glifosato. A *Agrobacterium tumefaciens* é uma bactéria gram-negativa encontrada naturalmente no solo. Ela causa galhas em plantas suscetíveis e não há nenhuma evidência científica que indique que possa causar efeitos adversos em seres humanos ou em animais.

Na natureza, além da proteína CP4 EPSPS de *A. tumefaciens*, há centenas de outras EPSPS produzidas por plantas, bactérias e fungos, mas não por animais. Portanto, diferentes versões da proteína EPSPS estão normalmente presentes em todos os alimentos derivados de plantas e de microorganismos.

O gene *cp4 epsps* foi introduzido na linhagem de milho LH82XB73 pelo método de biobalística ou biolística (aceleração de partículas). Uma única cópia do cassete de expressão está presente no evento, sem a presença de sequências do vetor, estando integrada de forma estável em um único local do genoma.

2.3. Milho DAS-40278-8 x NK603

O cruzamento do evento DAS-40278-9 com o evento NK603, dando origem ao evento piramidado DAS-40278-9 x NK603, não alterou as características moleculares dos genes *aad-1* e *cp4 epsps* presentes nos eventos individuais. As análises de Southern blot com sondas *add-1* e *cp4 epsps* em amostras de DNA dos eventos DAS-40278-9, K603 e DAS-40278-9 x NK603 mostraram que a ocorrência dos insertos de DNA contendo os genes *add-1* e *cp4 epsps* no evento DAS-40278-9 x NK603 representa aquela originalmente presente em cada evento individual, com a inserção de uma única cópia intacta do cassete de expressão de *aad-1* e *cp4 epsps* no genoma do milho piramidado. Nenhum fragmento adicional além do cassete de expressão *aad-1* e do cassete de expressão *cp4 epsps* foi identificado no evento DAS-40278-9 x NK603 e

nenhuma sequência do vetor original foi inserida. Portanto, estes resultados demonstram a estabilidade dos genes originalmente inseridos nos eventos individuais e que foram conservados no evento piramidado.

A expressão das proteínas AAD-1 e CP4 EPSPS no milho DAS-40278-9 x NK603 foi determinada em experimentos realizados tanto no Brasil (Galan, 2012), como nos Estados Unidos (Phillips *et al.*, 2009).

No Brasil os ensaios foram conduzidos durante a safra 2011/12 nas Unidades Operativas da Dow AgroSciences em Cravinhos (SP), e Indianópolis (MG) (processo CTNBio no. 01200.003636/2009-11). Foram utilizados 4 tratamentos: Tratamento 1: iso-híbrido (comercial), sem aplicação de herbicida; Tratamento 2: milho DAS-40278-9 x NK603 (sem aplicação de herbicidas); Tratamento 3: milho DAS-40278-9 x NK603 com aplicação de 2,4-D e glifosato; Tratamento 4: milho DAS-40278-9 x NK603 com aplicação de haloxifope-R. Os níveis de expressão das duas proteínas foram determinados em amostras de folha, planta inteira, raiz, pólen, forragem e grão usando o método de ELISA quantitativo. Os valores da média geral de expressão da proteína AAD-1 variaram de 2,86 ng/mg de peso seco em planta inteira no estádio R6 a 133,37 ng/mg em tecido de pólen no estádio R1. Os valores da média geral de expressão da proteína CP4 EPSPS variaram de 7,64 ng/mg em grão estádio R6 a 360,81 ng/mg em tecido de folha no estádio R1. Os valores de expressão foram similares para todos os tratamentos transgênicos, com aplicação dos herbicidas 2,4-D + glifosato ou haloxifope-R, assim como para o tratamento sem aplicação.

Nos Estados Unidos os estudos foram conduzidos em 2009. Os ensaios foram conduzidos em 6 estados e 8 locais (Iowa, Illinois (2 ensaios), Indiana, Missouri (2 ensaios), Nebraska e Pensilvânia). O estudo foi conduzido com 7 tratamentos: 5 tratamentos com o milho piramidado DAS-40278-9 X NK603: não pulverizado, pulverizado com 2,4-D, pulverizado com quizalofope, pulverizado com glifosato, pulverizado com 2,4-D, quizalofope e glifosato; 1 tratamento com milho DAS-40278-9 sem pulverização, e 1 tratamento com iso-híbrido (controle). Os níveis de expressão das duas proteínas foram determinados em amostras de folhas, raízes, planta inteira, forragem, pólen e grão usando o método de ELISA quantitativo. Os valores médios da expressão de AAD-1 variaram de 2,08 ng/mg de peso seco no estádio de planta inteira R6 a 103 ng/mg no tecido de pólen. Os valores médios da expressão de CP4 EPSPS variaram de 9,24 ng/mg de peso seco no grão R6 a 212 ng/mg no tecido de folha (V2-V4). Os valores da expressão foram semelhantes em todos os tratamentos.

Chama a atenção o fato de que as proteínas de cada evento, quando quantificadas por ELISA nos diferentes tecidos da planta em vários estágios de desenvolvimento, não apresentaram diferenças em relação à expressão pelas linhagens contendo um único evento. Estes dados indicam que nenhum efeito sinérgico ocorre na linhagem piramidada, o que era de se esperar tendo em vista que as duas proteínas inseridas atuam em vias metabólicas distintas.

Apesar dos estudos terem sido realizados em condições ambientais, agronômicas e com germoplasmas distintos, a expressão das proteínas AAD-1 e CP4 EPSPS mostrou padrão semelhante para os mesmos tecidos, com variação esperada em função de condições edafoclimáticas e tecnologia de produção distintas. O Brasil é um país tropical, enquanto que os Estados Unidos é um país com clima temperado. As médias mais altas de expressão das proteínas AAD-1 e CP4 EPSPS ocorreram nos mesmos tecidos nas duas regiões de estudo. O mesmo ocorreu com os valores mais baixos e com os valores intermediários de expressão das proteínas nas duas localidades. É necessário levar em consideração que parte das diferenças observadas nos dois países pode ser atribuída aos diferentes germoplasmas (híbridos) testados nos dois ambientes.

Chama a atenção o fato de que as proteínas de cada evento, quando quantificadas por ELISA nos diferentes tecidos da planta em vários estágios de desenvolvimento, não apresentaram diferenças em relação à expressão pelas linhagens contendo um único evento. Estes dados indicam que nenhum efeito sinérgico ocorre na linhagem piramidada, o que era de se esperar tendo em vista que as duas proteínas inseridas atuam em vias metabólicas distintas.

III - AVALIAÇÃO DE RISCO À SAÚDE HUMANA E ANIMAL

3.1 Toxicidade do milho DAS-40278-9 x NK603

A equivalência substancial do milho DAS-40278-9 x NK603 comparativamente ao milho convencional, e a rápida desnaturação e degradação das proteínas AAD-1 e CP4 EPSPS, durante o processamento garantem a segurança do consumo do milho geneticamente modificado e dos produtos dele derivados. Análises de composição nutricional do milho DAS-40278-9 x NK603 em comparação com o milho convencional mostram semelhanças entre os dois produtos com relação ao teor de proteínas, fibras, carboidratos, óleos, cinzas, minerais, ácidos graxos, aminoácidos, vitaminas, metabólitos e antinutrientes. Essa similaridade confirma dados publicados em literatura técnico-científica sobre o milho DAS-40278-9 x NK603, de que a presença dos genes *aad-1* e *cp4 epsps*, que conferem tolerância aos herbicidas 2,4-D, haloxifop-R e glifosato, respectivamente, não causam alterações na composição nutricional do OGM, além daquelas que podem ser causadas por fatores bióticos e abióticos na lavoura.

Os níveis de componentes bioativos quando quantificados nas amostras de milho DAS-40278-9 x NK603 foram estatisticamente semelhantes aos do milho convencional, com variação observada dentro de intervalos padrões relatados em literatura.

Nenhuma homologia significativa foi observada entre as proteínas AAD-1 e CP4 EPSPS com relação às proteínas conhecidas como alergênicas ou tóxicas. Não foi detectada similaridades entre as proteínas AAD-1 e CP4 EPSPS e as proteínas alergênicas conhecidas.

A modificação genética do milho DAS-40278-9 x NK603 não altera as condições de processamento utilizadas para o milho comum, as quais são amplamente conhecidas, adquiridas ao longo do tempo.

Com base nestes resultados a empresa DOW AgroSciences demonstrou que o milho DAS-40278-9 x NK603 não expressa qualquer proteína tóxica ou alergênica conhecida, de forma que o consumo de milho DAS-40278-9 x NK603 e/ou seus produtos é tão seguro quanto o consumo do milho convencional e/ou seus produtos, com relação aos efeitos na cadeia alimentar humana e animal pela ingestão deste OGM e seus derivados.

A toxicidade desta proteína para os seres humanos e animais foi examinada em um estudo no qual se avaliou a toxicidade oral aguda em ratos. A proteína foi administrada por gavagem, sendo que a dose mais alta testada foi de 2.000 mg de AAD-1 por kg de peso corporal. Todos os animais sobreviveram e não foram observados sintomas clínicos durante o estudo. No momento da finalização do estudo (15-dias) não foram observados efeitos patológicos relacionados ao tratamento e não houve alteração quanto ao ganho de peso entre animais que receberam e os que não receberam tais proteínas.

O estudo permitiu concluir que a DL₅₀ da proteína AAD-1 em ratos (fêmeas e machos) foi maior que 2.000 mg/kg. Desse modo, a dose observada sem efeito, NOEL, foi considerada como sendo maior que 2.000 mg/kg PC (maior dose testada).

A exposição alimentar da proteína AAD-1 em dietas de animais foi desenvolvida através da combinação das informações de expressão da proteína AAD-1 contendo o evento DAS-

40278-9 nas plantas de milho em estudo de campo, com um cálculo da dieta de consumo de milho e forragem de milho pelos animais (frango de corte, galinhas poedeiras, laticínios e na carne bovina de consumo humano). Nenhuma alteração nos animais foi encontrada nestes experimentos.

A empresa apresenta ainda um estudo de resíduos de 2,4-D, glifosato e AMPA em amostras de milho OGM tratadas com este herbicida em 4 localidades no Brasil. As técnicas utilizadas foram todas em BPL e todos os resultados não apresentaram nenhum resíduo de herbicidas (ND, Não Detectado) nas amostras do controle convencional e nas amostras tratadas dos ensaios conduzidos nas 4 localidades.

A composição do alimento é um importante componente para a inferência da biossegurança de alterações genéticas decorrentes de programas de melhoramento genético ou de modificações introduzidas por meio de transformação genética, e para atender à legislação exige estudos de equivalência composicional para comprovar a segurança alimentar de um cultivar geneticamente modificado, como o milho DAS-40278-9 x NK603.

A empresa apresenta os estudos realizados no Brasil e nos Estados Unidos que demonstram que o milho DAS-40278-9 x NK603 não difere do milho convencional na composição nutricional, bem como em características agrônômicas, morfológicas e reprodutivas com exceção apenas às características de tolerância a herbicidas à base de 2,4-D, glifosato e a herbicidas do grupo dos ariloxifenoxipropionatos (haloxifope-R, quizalofope, etc.), pela presença e expressão dos genes *aad-1* e *cp4 epsps*.

Pode-se concluir que a composição do grão do milho DAS-40278-9 x NK603 é similar à composição de nutrientes do milho convencional, portanto não se antevendo efeito adverso à saúde humana e animal com o consumo do novo produto.

3.2 Alergenicidade do milho DAS-40278-9 x NK603

A proteína AAD-1 não tem semelhança significativa com sequências de aminoácidos de toxinas conhecidas. A sequência de aminoácidos da proteína AAD-1 foi avaliada usando uma pesquisa de similaridade através da ferramenta BLASTp contra o banco de dados GenBank de proteínas não redundantes. Nenhuma das proteínas semelhantes identificadas na pesquisa apresenta histórico de risco à biossegurança.

Um estudo de toxicidade oral aguda com a proteína AAD-1 foi realizada em ratos ministrando um nível de 2.000 mg da proteína AAD-1 por kg após o ajuste de pureza. Todos os animais sobreviveram, e nenhum efeito adverso foi observado durante o estudo. Todos os animais ganharam peso 15 dias após o término do estudo. Não foram relacionadas observações patológicas com o tratamento aplicado. O relatório conclui que, nas condições do estudo, a DL₅₀ oral aguda do milho DAS-40278-9 em ratos machos e fêmeas foi maior que 2.000 mg/kg. O NOEL foi superior a 2.000 mg/kg com base no fato de que nenhuma mortalidade foi observada e não houve nenhum efeito adverso ou não adverso com os animais tratados com milho DAS-40278-9.

Os níveis dos antinutrientes ácido fítico, rafinose e inibidor de tripsina e dos metabólitos secundários inositol, furfural, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, quantificados nas amostras de milho DAS-40278-9 x NK603 foram estatisticamente semelhantes ao milho controle convencional e os valores obtidos estiveram dentro de intervalos padrões relatados em literatura para o milho convencional.

Portanto o milho DAS-40278-9 x NK603 não produz toxinas ou metabólitos que possam causar efeito ao consumidor humano ou animal, comportando-se como o milho convencional

com relação a essas características. O consumo de milho DAS-40278-9 x NK603 e/ou de seus produtos é tão seguro quanto o consumo do milho convencional e/ou seus produtos, com relação às características de segurança alimentar.

O organismo doador, *Sphingobium herbicidovorans* (anteriormente designado *Sphingomonas herbicidovorans*), é uma bactéria presente no solo portadora de genes que codificam enzimas que facilitam a decomposição dos herbicidas fenoxi auxina (2,4-D), haloxifope-R e quizalofope, permitindo à bactéria usá-los como fonte de carbono.

Sphingobium herbicidovorans faz parte do gênero *Sphingomonas*, largamente distribuído na natureza, sendo isolada de *habitats* tanto terrestres como aquáticos, de raízes de plantas, etc. Devido a sua capacidade biodegradativa e Biosintética, as *Sphingomonas* têm sido largamente usadas em aplicações biotecnológicas, incluindo biorremediação de contaminantes ambientais para produção de polímeros extracelulares, tais como *Sphinganas*, os quais são extensivamente usados na indústria de alimentos.

Entre aproximadamente 20 espécies reconhecidas de *Sphingobium*, apenas uma, a *S. yanoikuyae* foi isolado a partir de um ambiente clínico. Entretanto, outros gêneros relacionados, são conhecidos por causar infecções raras que são geralmente limitadas na virulência (Balkwill *et al.*, 2006). Por causa de sua onipresença e capacidade de adaptação, *Sphingomonas* são frequentemente encontrados na prática clínica, mas geralmente não associados à infecção. Há relatos que *Sphingomonas glycolipids* podem produzir antigênicos que podem ter uso terapêutico (Kinjo *et al.*, 2008). Outras *Sphingomonas* relacionadas são conhecidas por produzir *sphingans* (um polissacarídeo extracelular do tipo gelatina), que pode ser utilizado em alimentos como agentes gelificantes, estabilizantes ou agentes de suspensão (van Kranenburg *et al.*, 1999).

A proteína AAD-1 não tem semelhança significativa com sequências de aminoácidos de toxinas conhecidas. Aminoácidos semelhantes da proteína AAD-1 foram avaliados usando uma pesquisa de similaridade através da ferramenta BLASTp contra o banco de dados GenBank de proteínas não redundantes. Nenhuma das proteínas semelhantes identificadas na pesquisa apresenta qualquer ocorrência relatada de risco à biossegurança.

Os resultados demonstraram, ainda, que a proteína AAD-1 é facilmente digerida e não detectável em 30 segundos no suco gástrico simulado. Em todas as condições de aquecimento, foi eliminado acima de 97% da atividade enzimática da proteína, demonstrando que a proteína AAD-1 é termo-lábil. Pode-se concluir desses estudos que é improvável que a proteína AAD-1 possa causar reações alérgicas ou tóxicas em humanos ou em animais.

IV. AVALIAÇÃO DE RISCO AO MEIO AMBIENTE

4.1. Características agronômicas do milho DAS-40278-9 x NK603

Os experimentos para avaliação das características agronômicas do milho DAS-40278-9 x NK603 foram realizados tanto no Brasil (Galan, 2012) como nos Estados Unidos (Phillips e Lepping, 2011), onde as características agronômicas do milho DAS-40278-9 x NK603 (com e sem pulverização com os herbicidas) foi comparado com as do milho convencional (iso-híbrido).

Para a avaliação de características agronômicas no Brasil, um estudo foi conduzido pela proponente durante a safra de 2011/12 em Cravinhos (SP) e Indianópolis (MG) (Proc. CTNBio n° 01200.003636/2009-66). Todos os resultados são apresentados no ANEXO IV do Relatório de Biossegurança e os parâmetros avaliados foram: *stand* inicial e final, Florescimento masculino e feminino, susceptibilidade/resistência a doença, formato e cor de pólen, vigor da planta, injúria

de herbicida, dano de inseto, *stay green*, altura da planta e da espiga, quebração, tombamento, umidade do grão, produção e dias para maturidade. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre o milho DAS-40278-9 x NK603 e o iso-híbrido, no que se refere a essas características agronômicas.

Para a avaliação de características agronômicas nos Estados Unidos, os ensaios foram conduzidos pela Dow AgroSciences em 2009. Todos os resultados são apresentados no ANEXO IV do Relatório de Biossegurança. Aqui também as características fenotípicas e de crescimento da planta em resposta à pressão de insetos e doenças, a morfologia e viabilidade do pólen e as características de germinação e vigor das plantas não mostraram diferenças entre o milho DAS-40278-9 x NK603 e seu controle convencional, quando submetidos a vários ambientes.

4.2. Germinação e dormência da semente

A característica de dormência da semente pode alterar a sobrevivência e disseminação das plantas que se propagam por semente. Assim, é importante verificar se esta característica foi alterada no OGM pela introdução dos transgenes no milho DAS-40278-9 x NK603. Nos estudos realizados a característica de dormência da semente não foi alterada no milho GM DAS-40278-9 x NK603 pela introdução dos transgenes.

4.3. Morfologia e viabilidade do pólen

A morfologia e a viabilidade do pólen não foram alteradas no milho GM DAS-40278-9 x NK603.

4.4. Capacidade de dispersão das estruturas de propagação e reprodução do milho DAS-40278-9 x NK603

O processo de domesticação tornou o milho atual uma planta altamente dependente do homem para se reproduzir. A dispersão das sementes do milho somente ocorre através da intervenção humana. Sem o plantio das sementes e os tratos culturais a espécie não sobrevive no campo. O milho convencional não é uma espécie invasiva em ecossistemas naturais e nem exibe tendência de proliferar-se como planta daninha (CFIA, 1994). Portanto, como o milho GM DAS-40278-9 x NK603 não apresentou nenhuma característica diferente do iso-híbrido em relação a características agronômicas, germinação e dormência da semente e morfologia e viabilidade do pólen, não se vislumbra que o mesmo venha a ter um comportamento de invasibilidade ou de planta daninha.

4.5. Fluxo gênico

O milho é uma planta alógama, com taxa de cruzamento de aproximadamente 90% (Bueno *et al.*, 2013). A polinização é feita pela ação dos ventos, embora ocorra a presença de insetos polinizadores de outros vegetais na época da antese, principalmente abelhas e vespas, à procura de pólen. O milho DAS-40278-9 x NK603, por ser similar ao milho convencional, cruza com facilidade com outros milhos cultivados, bem como com espécies selvagens próximas. A espécie mais estreitamente relacionada com o milho é o teosinte (*Zea mays mexicana*), que se encontra em algumas regiões do México e Guatemala e cruza, eventualmente, com o milho produzindo descendentes férteis. Smith *et al.* (1985), entretanto, não conseguiram demonstrar a ocorrência de introgressão recente entre o milho e teosinte. Outro parente mais distante do milho é o

Tripsacum, que ocorre na América do Sul, incluindo o Brasil. Não se tem, entretanto, evidências de introgressão natural ou retrocruzamentos entre Tripsacum e o milho (De Wet *et al.*, 1981). Embora algumas espécies de Tripsacum possam cruzar com o milho através de polinização artificial, em condições de laboratório, de casa de vegetação ou de campo, é altamente improvável, se não impossível, que ocorram cruzamentos entre as duas espécies através de fertilização natural (Beadle, 1980). Os híbridos produzidos sob condições controladas são estéreis ou sua progênie apresenta fertilidade significativamente reduzida (Galinat, 1988).

O milho DAS-40278-9 x NK603, assim como o milho convencional é sexualmente compatível com outros indivíduos não-GM da mesma espécie, quer sejam de variedades crioulas, de variedades sintéticas ou de milhos híbridos. Existem, entretanto, medidas simples para evitar o cruzamento entre diferentes híbridos (ou cultivares) de milho, como por exemplo o isolamento temporal ou o isolamento espacial. Portanto, o plantio do milho DAS-40278-9 x NK603, após sua liberação comercial, deverá obedecer à legislação brasileira vigente que trata da coexistência entre lavouras de milho GM e lavouras de milho convencional, impedindo assim o fluxo gênico.

4.6. Efeito do milho DAS-40278-9 x NK603 em características físico-químicas do solo e concentração de nutrientes nas folhas

Os experimentos para avaliar estes parâmetros foram instalados nas Unidades Experimentais da Dow AgroSciences Industrial Ltda. localizadas nos municípios de Cravinhos (SP) e Indianópolis (MG), processo CTNBio no. 01200.003636/2009-66 (Cruz *et al.*, 2012a). Os 4 tratamentos foram constituídos pelo híbrido HS3501 em quatro versões: Iso-híbrido (convencional), milho DAS-40278-9 x NK603 não pulverizado, milho DAS-40278-9 x NK603 pulverizado com 2,4-D + glifosato e milho DAS-40278-9 x NK603 pulverizado com haloxifop-R.

Não foram observadas diferenças em relação à macro e micro nutrientes, bem como na granulometria do solo, entre o milho DAS-40278-9 x NK603 (com e sem a aplicação de herbicidas) e o iso-híbrido convencional. Foi demonstrado também que as plantas do milho geneticamente modificado DAS-40278-9 x NK603 (com ou sem aplicação de herbicida), não apresentam diferenças na concentração de nutrientes nas folhas em relação às plantas do seu controle convencional iso-híbrido. A conclusão, portanto, é que quando comparado como seu controle iso-híbrido, o milho GM DAS-40278-9 x NK603, com ou sem aplicação de herbicidas, não causa impacto nas características físico-químicas do solo e nem apresenta diferenças na concentração de nutrientes nas folhas.

4.7. Biodegradabilidade da planta GM

Para avaliar a decomposição de plantas do milho DAS-40278-9, comparativamente com seu controle convencional, um estudo foi conduzido nas Unidades Operativas de Indianópolis (MG) e Mogi Mirim (SP). Os 4 tratamentos foram: Iso-híbrido (convencional), milho DAS-40278-9 pulverizado com 2,4-D, milho DAS-40278-9 pulverizado com haloxifop-R e milho DAS-40278-9 sem a aplicação de herbicida.

Para avaliar a decomposição de plantas do milho DAS-40278-9 x NK603, comparativamente com seu controle convencional, os experimentos foram instalados nas Unidades Operativas de Cravinhos (SP) e Indianópolis (MG) na safra 2011/12 (Cruz *et al.*, 2012b). Os tratamentos foram: HS3501 (iso-híbrido, não geneticamente modificado); DAS-40278-9 x NK603 sem

aplicação de herbicidas; DAS-40278-9 x NK603 com a aplicação dos herbicidas 2,4 D + glifosato e DAS-40278-9 x NK603 com aplicação do herbicida GF-142 haloxifop-R. As avaliações foram realizadas aos 30, 60, 90 e 120 dias.

A decomposição das plantas de milho DAS-40278-9 x NK603, com ou sem aplicação dos herbicidas, não diferiu das plantas do controle iso-híbrido, indicando que a biodegradabilidade do milho DAS-40278-9 x NK603 é similar à registrada no milho controle convencional.

A maior decomposição da palha de milho no solo ocorreu nos primeiros 30 dias de incubação. A relação C/N das plantas de milho DAS-40278-9 x NK603, com ou sem aplicação dos herbicidas, não diferiu das plantas do controle iso-híbrido.

4.8. Transferência horizontal da característica introduzida no OGM para a microbiota do solo

Não há na literatura descrição de mecanismo conhecido, ou demonstração definitiva, da transferência de DNA de plantas para microrganismos (Calgene, 1993; WHO, 1993; FDA, 1994; Redenbaugh *et al.* 1994; Prins e Zadoks, 1994; Schuler *et al.* 1999; Connor *et al.*, 2003). Mesmo que fosse possível a transferência dos genes *aad-1* e/ou *cp4 epsps* da linhagem de milho DAS-40278-9 x NK603 para um micro-organismo da biota do solo, isso não representaria um risco para a saúde humana ou para um patógeno da planta, baseado nos dados de biossegurança apresentados.

O gene que codifica a proteína AAD-1 foi isolado de uma bactéria do solo, *Sphingobium herbicidovorans* e o gene que codifica a proteína CP4 EPSPS foi isolado de uma bactéria do solo, *Agrobacterium* sp., cepa CP4, e ambos os organismos já ocorrem na natureza.

Se fosse possível a transferência horizontal, o micro-organismo recipiente dos genes *aad-1* e/ou *cp4 epsps* teria o mesmo risco de receber esses genes do próprio *Sphingobium herbicidovorans* ou do *Agrobacterium* sp que coabitam o solo.

4.9. Impactos negativos ou positivos aos organismos alvo e não-alvos com a liberação do milho DAS-40278-9 x NK603

No presente caso, a presença do gene *aad-1* da bactéria de solo *Sphingobium herbicidovorans* e do gene *cp4 epsps* de *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4 confere ao milho GM DAS-40278-9 x NK603 apenas tolerância aos herbicidas à base de 2,4-D, herbicidas do grupo dos ariloxifenoxipropionatos (AOPPs) e glifosato. Afora esta característica, os estudos realizados mostraram que o milho GM DAS-40278-9 x Nk603 não difere do milho convencional em características agrônomicas, morfológicas e reprodutivas, assim como é equivalente em composição química e nutricional ao milho convencional, sendo tão seguro quanto o mesmo. As proteínas AAD-1 e EPSPS produzidas pelo milho GM DAS-40278-9 x NK603 não tem efeito inseticida, nematocida, fungicida, bactericida ou outros efeitos que não o de inativar os herbicidas 2,4-D, determinados herbicidas do grupo dos ariloxifenoxipropionatos e glifosato. Portanto, o conceito de “organismo alvo” não se aplica ao milho GM DAS-40278-9 x NK603. Este conceito se aplica por exemplo a OGMs que apresentam resistência a insetos.

As proteínas AAD-1 e EPSPS, expressas pelo milho DAS-40278-9 x NK603, não apresentam similaridade com proteínas reconhecidas alergênicas ou tóxicas; portanto, seu consumo não representa risco à saúde de humanos e animais.

O milho DAS-40278-9 x NK603, à semelhança do milho convencional, não tem características de espécie invasora ou propriedades de plantas daninhas, exibindo apenas a característica nova de tolerância a alguns herbicidas.

Pelos resultados dos estudos apresentados e do conhecimento disponível na literatura, pode-se concluir que o evento DAS-40278-9 x NK603 não produz alterações significativas em organismos que compartilham o mesmo ambiente da lavoura diferente daquele que ocorre no cultivo do milho convencional.

V. PARECER

Considerando que:

- 1) Os insertos tiveram sua integridade mantida durante o processo de melhoramento genético clássico;
- 2) O padrão de herança genética demonstrou que os dois eventos são independentes e segregam estavelmente ao longo de sucessivas gerações;
- 3) As avaliações agronômicas indicaram que não houve expressão de nenhuma nova característica além das esperadas;
- 4) O perfil de expressão das proteínas recombinantes não é diferente da expressão obtida nos milhos contendo os eventos separadamente;
- 5) Todos os testes que envolvam a segurança animal e alimentar do milho DAS-40278-9 x NK603 demonstram que não há nenhuma evidência toxicológica ou alergênica;
- 6) O milho é a espécie que atingiu o mais elevado grau de domesticação entre as plantas cultivadas, sendo incapaz de sobreviver na natureza sem intervenção humana;
- 7) Não há no Brasil espécies silvestres nativas com que o milho possa se inter cruzar;
- 8) Os estudos realizados no Brasil e Estados Unidos demonstraram que o milho DAS-40278-9 X NK603 não difere do milho convencional em características agronômicas, morfológicas, reprodutivas, nas características de sobrevivência e na forma de disseminação das plantas, na resposta aos principais patógenos e pragas, bem como na composição química e nutricional, com exceção apenas às características de tolerância a herbicidas à base de 2,4-D, a herbicidas do grupo dos ariloxifenoxipropionatos (haloxifope-R, quizalofope, etc.) e ao glifosato, conferida pela presença e expressão dos gene *aad-1* e *cp4 epsps*;
- 9) O OGM não apresenta risco de invasibilidade ou de planta daninha;
- 10) A biossegurança deste evento já foi avaliada pelos sistemas regulatórios de 05 países, sendo aprovado em todos para o uso pretendido: ração animal e/ou nutrição humana e/ou plantio;
- 11) A disponibilidade do milho DAS-40278-9 x NK603 propiciará aos produtores de milho no Brasil uma alternativa para incrementar o manejo de plantas daninhas na cultura, tendo em vista que o manejo integrado, com rotação de herbicidas, é a melhor forma de reduzir a resistência das plantas daninhas a herbicidas;
- 12) É perfeitamente possível a coexistência no campo entre lavouras de milho GM DAS-40278-9 x NK603 e lavouras de milho convencional ou crioulo;
- 13) As informações atualmente disponíveis na literatura científica;

Cabe portanto avaliar neste parecer alterações na segurança alimentar devidas a piramidação dos eventos já que separadamente eles foram considerados seguros.

Durante as avaliações para liberação comercial do milho DAS-40278-9 x NK603 a segurança alimentar para consumo humano e animal foi exaustivamente verificada através dos dados brutos de testes de toxicidade, alergenicidade, digestibilidade e composição centesimal das novas variedades tanto *in vitro* quanto *in vivo* conforme descrito na Fundamentação teórica, donde se pode concluir que os eventos não apresentavam perigos maiores do que as variedades parentais.

Tendo em vista que o melhoramento genético clássico não interferiu com a integridade das inserções, que o padrão de segregação das características foi independente e estável, que os fenótipos da planta não apresentam novas características é de se supor que nenhum efeito sinérgico das duas características ocorre na linhagem piramidada.

Além disso, as proteínas de cada evento quando quantificadas por Elisa nos diferentes tecidos da planta em vários estágios de desenvolvimento da mesma não apresentaram diferenças em relação a expressão pelas linhagens contendo um único evento.

Estes dados indicam que nenhum efeito sinérgico ocorre na linhagem piramidada, o que era de se esperar tendo em vista que as duas proteínas inseridas atuam em vias metabólicas distintas.

No tocante ao meio ambiente, concluiu-se que o milho DAS-40278-9 x NK603 não é potencialmente causador de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica ao milho convencional.

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 tolerância aos herbicidas 2,4-D, a herbicidas do grupo dos ariloxifenoxipropionatos (haloxifope-R, quizalofope, etc.) e ao glifosato. Não há também evidência de reações adversas ao uso do milho DAS-40278-9 x NK603. Por essa razão, não existem restrições ao uso deste milho 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 do milho DAS-40278-9 x NK603 além daqueles já ocasionados para as diferentes variedades de milho convencional em uso no país.

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. Como a planta transgênica vem acompanhada pelo uso de herbicidas, solicita-se ao MAPA que tome providência na fiscalização e controle quanto:

- Impactos sócio-econômicos pela introdução da tecnologia, medidas mitigatórias quanto a seleção de plantas resistentes;
- Elaboração de um programa de gestão responsável com os clientes no qual a empresa deverá tomar medidas agressivas para o manejo da resistência afim de evitar a seleção de plantas resistentes, e o uso responsável do produto;
- Programa de investigação imediata por qualquer reclamação de clientes por falta de rendimento;
- Programa de proteção também inclui educar e treinar os distribuidores, agricultores e aplicadores sobre o uso adequado da tecnologia, relatando casos verificados de resistência ao Enlist Duo para as partes interessadas, o desenvolvimento de testes de diagnóstico para avaliar as espécies de plantas daninhas resistentes e monitorar se o milho DAS-40278-9 x NK603 está sendo usado em sementes de Enlist. Elaboração de um registro que deve conter um termo que exige que a empresa apresente relatórios anuais de síntese ao MAPA, que incluem um resumo do número de casos prováveis e confirmados de resistência de plantas daninhas especificando as espécies de plantas daninhas, a colheita, o município e o estado;
- Medidas mitigatórias contra deriva;
- No rótulo da embalagem de semente deverá ser obrigatória a descrição dos eventos de resistência que a semente contém, para conhecimento do agricultor.

V. 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 o milho DAS-40278-9 x NK603 é tão seguro 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 o milho DAS-40278-9 x NK603 é substancialmente equivalente à soja convencional, sendo seu consumo seguro para a saúde humana e animal.

A CTNBio considera que o cultivo do milho DAS-40278-9 x NK603 não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou de agravos à saúde humana e animal e guarda com a biota relação idêntica à do milho convencional.

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.

VI. MONITORAMENTO

Com relação ao plano de monitoramento pós-liberação comercial, a CTNBio determina que sejam seguidas as instruções e executadas as ações técnicas de monitoramento constantes na Resolução Normativa 09 de 02 de dezembro de 2011.

Assim, de acordo com o Art. 3º. da Resolução Normativa 09, “A requerente deverá submeter o plano de monitoramento pós-liberação comercial, ou solicitar sua isenção, no prazo de 30 (trinta) dias, contados a partir da publicação do deferimento do pedido de liberação

comercial do OGM, em consonância com a avaliação de risco da CTNBio, bem como com o parecer contido na sua decisão técnica”.

A disponibilidade do milho DAS-40278-9 x NK603 terá um impacto positivo nas práticas de controle de plantas daninhas, constituindo-se numa alternativa importante para atender às necessidades dos produtores de milho no Brasil.

O plano de monitoramento apresentado no Relatório Técnico está elaborado de acordo com a Resolução Normativa 09 e contém o tamanho da amostra, as regiões a serem abrangidas, a periodicidade da coleta das informações e das demais ações e a metodologia a ser utilizada. Entretanto, não há referência a nenhum estudo de resistência a plantas invasoras e nem a plantas tiguera, o que deverá ser apresentado no monitoramento.

Em relação à segurança do meio ambiente, os únicos resultados referentes a este parâmetro são características agrônômicas e comparação com a linhagem não GM; **por ser inconclusivo solicita-se que seja incluído no monitoramento.**

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEADLE, G. (1980). The Ancestry of Corn. Scientific American. 242:112.
2. BOWER, S.; Burke, E.; Harding, N.E.; Patel, Y.N.; Schneider, J.C.; Meissner, D.; Morrison, N.A.; Bezanson, R. (2006). Mutant bacterial strains of the genus *Sphingomonas* deficient in 384 production of polyhydroxybutyrate and a process of clarification of sphingans and compositions thereof. U.S. Patent #20060121578.
3. BUENO, L. C. S, Mendes, A. N. G., Carvalho, S. P. (2013). Melhoramento Genético de Plantas - princípios e procedimentos. Editora UFLA, 2º edição, 1ª. reimpressão, p. 319.
4. CALGENE, Inc. (1993). Food additive petition for the APH(3'') II as a processing aid FDA Docket Number: 93F-0232.
5. CFIA. (1994). Regulatory directive Dir94-11: The Biology of *Zea mays L.* (Corn/Maize). Canadian Food Inspection Agency, Plant Products Division, Plant Biotechnology Office, Ottawa.
6. CODEX ALIMENTARIUS, (2009). *Codex Alimentarius* Special Publications, Foods Derived from Modern Biotechnology (Second Edition), 2009; Guideline for the Conduct of Food Safety Assessment of Foods Derived from Recombinant-DNA Plants; Annex 1: Assessment of Possible Allergenicity. 22-27.
7. CONNOR, J. A.; Glare, T. R.; Nap, J. P. (2003). The release of genetically modified crops into environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. The Plant Journal. 33: 19-46.
8. CRUZ, M. C. P.; Ferreira, M. E.; Gravena, R.; Guimarães, J. R. D. O.; Amorim, L. C. S. Segata, E., Albergaria, N. M. M., Danieli, T. (2012a). Impacto do milho geneticamente modificado contendo o evento DAS-40278-9 x NK603 em características físico-químicas do solo e concentração de nutrientes nas folhas. Relatório não publicado. Gravena / UNESP / Dow AgroSciences.
9. CRUZ, M. C. P.; Ferreira, M. E.; Gravena, R.; Amorim, L. C. S. Danieli, T. (2012b). Decomposição de plantas de milho geneticamente modificadas contendo os eventos DAS-40278-9 x NK603 em condições de campo. Relatório não publicado. Gravena / UNESP / Dow AgroSciences.
10. DE WET, J. M. J.; Timothy, D. H.; Hilu, K. W.; Fletcher, G. B. (1981). Systematics of South American *Tripsacum* (Gramineae). American Journal of Botany. 68: 269-276.

11. DÉLYE, C., Zhang, X. Q., Michel, S., Matějček, A., Powles, S. B. Molecular bases for sensitivity to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in black-grass (2005). *Plant Physiol.*, 137(3):794-806.
12. FDA (Food & Drug Administration). (1994). U. S. Food & Drug Administration. Statement of policy: foods derived from new plant varieties. *Fed. Reg. (USA)*. 57: 22984-23005.
13. FLETCHER, D. W. (2010). Cereal (corn) grain feeding study in the broiler chicken. Dow AgroSciences LLC. Estudo: 101051.
14. GALAN, M. P. R. (2012). Expressão de Proteínas em campo, Composição Nutricional e Características Agronômicas de uma linhagem de milho híbrido contendo Ariloxialcanoato Dioxigenase AAD-1 e CP4 EPSPS - Evento DAS-40278-9 x NK603. Dow AgroSciences. Relatório não publicado. Estudo: 110649.
15. GALINAT, W. C. (1988). The origin of Corn. In: *Corn & Corn Improvement*. Sprague, G. F. & Dudley, J. W. (eds). American Society of Agronomy, Inc.; Crop Science Society of America, Inc. & Soil Science Society of America, Inc.; Madison, Wisconsin, pp. 1-31.
16. HINTEREGGER, C.; Streichsbier, F. (2004). Continuous biodegradation of phenoxyalkanoate herbicides by *Sphingomonas herbicidovorans* MH in a PU-supplied bubble reactor. *Acta Biotheologica*. 19(4): 279-292.
17. ILSI (International Life Sciences Institute). (2010). ILSI Crop Composition Database. www.cropcomposition.org. Version 3.0 <http://www.cropcomposition.org/>.
18. LAL, R.; Dogra, C.; Malhortra, S.; Sharma, P.; Pal, R. (2006). Diversity, distribution and divergence of lin genes in hexachlorocyclohexane-degrading sphingomonads. *TRENDS in Biotechnology*. 24(3): 121-130.
19. OECD. (2002). Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*) : Key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. *ENV/JM/MONO*. 25: 42p.
20. PARIZA, M. W.; Foster E. M. (1983). Determining the safety of Enzymes used in food processing. *Journal of Food Protection*. 46(5): 453-468.
21. PARIZA, M. W.; Johnson E. A. (2001). Evaluating the safety of the microbial enzyme preparations used in food processing: update for a new Century. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 33(2): 173-186.
22. PHILLIPS, A. M.; Herman, R. A.; Thomas, A. D.; Sosa, M. (2009). Field expression, nutriente composition analysis and agronomic characteristics of a hybrid maize line containing aryloxyalkanoate dioxigenase-1 (AAD-1) event DAS-40278-9. Dow AgroSciences LLC. Indianapolis - Indiana, USA. Protocols 080137 and 080139. Estudo: 090084.
23. PHILLIPS, A. M.; Lepping, M. D. (2011). Field Expression, Nutrient Composition and Agronomic Characteristics of Hybrid Maize Lines Containing DAS-40278-9 and NK603 x DAS-40278-9. Dow AgroSciences LLC. Indianapolis - Indiana, USA. Estudo: 091033.05.
24. PRINS, T. W.; Zadoks, J. C. (1994). Horizontal gene transfer in plants, a biohazard? Outcome of a literature review. *Euphytica*. 76:133-138.
25. REDENBAUGH, K.; Hiatt, W.; Martineau, B.; Linfrman. J.; Emlay, D. (1994). Aminoglycoside 3-phosphotransferase II (aph(3^{II})) II: review of its safety and use the production of genetically engineered plants. *Food Biotechnology*. 8: 137-165.
26. SCHULER, T. H.; Potting R. P. J.; Denholm, I.; Poppy, G. M. (1999). Parasitoid behaviour and *Bt* plants. *Nature*. 400: 825-829.

27. SJOBLAD, R. D.; McClintock, J. T.; R. Engler. (1992). Toxicological considerations for protein components of biological pesticide products. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 15(1): 3-9.
28. SMITH, J. S. C.; Goodman, C. W.; Stuber, C. W. (1985). Relationships between maize and teosinte of Mexico and Guatemala: numerical analysis of allozyme data. *Economic Botany*. 39: 12-24.
29. STAGG, N.J., Thomas, J., Herman, R. A., Juberg, D. R. (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. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 62: 363–370.
30. THOMAS, J.; Marshall, V. A. (2010). AAD-1 protein: 28 day dietary toxicity study in CRE-CD1 (ICR) mice. Dow AgroSciences LLC. Estudo: 091026.
31. WATSON, S. A. (1982). Maize: amazing maize, CRC Handbook of Processing and Utilization in Agriculture, vol. II, Part 1. Plant Products I. A. Wolf (ed.) CRC Press Inc., pp. 3-29, Florida.
32. WATSON, S. A. (1987). Structure and composition, Maize: Chemistry and technology, S.A. Watson & P. E. Ransted (eds.), American Association of Cereal Chemists, Inc., pp. 53-82, Minnesota.
33. WHO - World Health Organization. (1993). Health Aspects of Marker Genes in Genetically Modified Plants. Report of the WHO Workshop held in Copenhagen, Denmark on September 1993.
34. WIESCINSKI, M. S.; Golden R. M. (2007). AAD-1: Acute oral toxicity study in CRL:CD1 (ICR) mice. Dow AgroSciences unpublished report ID 071128.
35. WRIGHT, T. R., Lira, J. M., Merlo, D.J., Hopkins, N. (2009). Novel herbicide resistance genes. U.S. Patent # 2009/0093366.
36. WRIGHT, T.R., Shan, G., Walsh, T. A., Lira, J. M., Cui, C., Song, P., Zhuang, M., Arnold, N. L., Lin, G., Yau, K., Russell, S. M., Cicchillo, R. M., Peterson, M. A., Simpson, D. M.,
37. ZHOU, N., Ponsamuel, J., Zhang, Z. (2010). Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 107(47):20240-20245.

Brasília, 8 de outubro de 2015.

EDIVALDO DOMINGUES VELINI
Presidente da CTNBio

DELIBERAÇÃO

A CTNBio decidiu por quinze votos favoráveis pela aprovação e um voto contrário: do Dr. Paulo Yoshio Kageyama.