



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

Comissão Técnica Nacional de Biossegurança

Coordenação Geral

PARECER TÉCNICO Nº 5425/2017

Processo: 01200.000298/2016-30

Data de Protocolo: 17/02/2016

Próton: 15330/2016

Requerente: Dow AgroSciences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda.

CQB: 107/99

Extrato Prévio: 4974/16 publicado no DOU em 17 de fevereiro de 2016

Reunião: 200ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 09 de março de 2017

Decisão: Deferido

Assunto: Liberação comercial de milho geneticamente modificado MON89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 para o cultivo comercial dessa planta geneticamente modificada, assim como para o seu consumo e de seus derivados.

PARECER TÉCNICO

Solicitação

O milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162, objeto desta solicitação à CTNBio para liberação comercial, é resultado do cruzamento clássico do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 com o milho MIR162, ambos em comercialização no país a partir de 2010 e 2009, respectivamente. O milho MON 89034 possui os genes cry1A.105 e cry2Ab2 codificando, respectivamente, as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, as quais promovem resistência a determinados insetos praga da ordem Lepidoptera. O milho TC1507 possui os genes cry1F e pat codificando, respectivamente, as proteínas Cry1F e PAT, as quais promovem resistência a determinados insetos praga da ordem Lepidoptera e tolerância ao herbicida glufosinato de amônio, respectivamente. O milho NK603 possui o gene cp4 epsps que codifica a proteína CP4 EPSPS, a qual promove tolerância ao herbicida glifosato. O milho MIR162 possui os genes vip3Aa20 e pmi codificando, respectivamente, as proteínas VIP3Aa20 e PMI, as quais promovem resistência a *Diatraea saccharalis* e determinados insetos praga da ordem Lepidoptera e seleção das plantas transformadas através da interconversão de manose-6-fosfato/frutose-6-fosfato, respectivamente.

O milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 foi desenvolvido com o objetivo de controlar lepidópteros pragas que infestam a cultura do milho podendo apresentar benefícios potenciais como a diminuição do uso de inseticidas para o controle de alguns insetos praga da cultura do milho.

Estudos a campo conduzidos com autorização da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) demonstram a eficácia, a praticabilidade agrônômica e a biossegurança do uso do milho MON 89034 x

TC1507 × NK603 × MIR 162 para cultivo em nosso país. Este produto não difere do milho convencional, exceto pela presença e expressão dos genes *cp4 epsps* e *pat*, que conferem tolerância aos herbicidas glifosato, e glufosinato de amônio, respectivamente, e dos genes *cry1F*, *cry1A105*, *cry2Ab2* e *vip3Aa20* que conferem resistência a determinados insetos, além do gene *pmi* que foi utilizado para seleção das plantas transformadas. O milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR 162, é semelhante ao milho convencional, não exibe tendência a proliferar-se como erva daninha e não é invasivo em ecossistemas naturais. Não se espera nenhuma vantagem competitiva proporcionada pelos genes *cry1A105*, *cry2Ab2*, *cry1F*, *pat*, *cp4 epsps*, *vip3Aa20* e *pmi* quando comparado ao milho convencional.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA:

Análises de composição nutricional do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162, em comparação ao milho convencional, mostram semelhança entre os dois produtos com relação ao teor de proteínas, fibras, carboidratos, óleos, umidade, cinzas, minerais, ácidos graxos, aminoácidos, vitaminas e bioativos. Portanto, as análises de 22 características agrônômicas do milho convencional Isohíbrido e do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162, com e sem pulverização de inseticidas, realizados em ensaios em 8 localidades da Argentina, indicaram que o milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 foi estatisticamente indistinguível do Isohíbrido e os seus valores estiveram dentro da variação do milho comercial (referência). Baseado no resultado deste estudo, conclui-se que o milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 é agronomicamente equivalente ao milho controle não transgênico.

As modificações genéticas do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 não alteram as condições de processamento utilizadas para o milho comum, as quais são amplamente conhecidas, adquiridas ao longo do tempo. As proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT, CP4 EPSPS, PMI e VIP3Aa20 são digeridas e/ou desnaturadas durante a digestão e processamento industrial, respectivamente.

Nenhuma homologia significativa utilizando ferramentas de bioinformática foi observada entre as proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT, CP4 EPSPS, PMI e VIP3Aa20 com relação às proteínas conhecidas como alergênicas ou tóxicas.

Com base nos resultados de bioinformática apresentados, foi possível demonstrar que o milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 não expressa qualquer proteína tóxica ou alergênica conhecida, indicando que o consumo dos seus grãos 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/ou animal pela ingestão deste OGM e seus derivados.

Os valores de NOEL e a quantidade máxima da expressão da proteína no grão (Silveira & Schafer, 2015) foram utilizados para se calcular a margem de exposição (MOE) e a quantidade necessária que uma pessoa precisaria consumir de milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 por dia para coincidir com o consumo definido como nível sem efeito (NOEL) das proteínas. Os cálculos foram efetuados considerando uma estimativa de consumo agudo de milho (FAO/WHO 2009), GC 645 (França), por um adulto de 4,06 g/kg/dia e de 6,17 g/kg/dia para uma criança com menos de 6 anos de idade.

Quanto maior o valor da Margem da Exposição (MOE), menor a probabilidade de que o milho produza efeito adverso à saúde em virtude da exposição real estar muito abaixo do limite estabelecido pelo NOEL. Para adultos, os valores da MOE foram muito altos, variando de 11.599 para a proteína VIP3Aa20 a 278.472 para a proteína PMI. Uma pessoa adulta deveria consumir um mínimo de 2.935 kg até um máximo de 68.589 kg de grãos do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162, para coincidir com o consumo definido como nível sem efeito (NOEL) das proteínas.

Outras combinações destes eventos, por cruzamento clássico, também estão aprovadas para alimentação humana e animal. Caso do milho TC1507 × NK603 desde 2006, do milho MON 89034 × NK603 desde 2008 e do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 desde 2010. Os dados de composição nutricional do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 para 66 analitos mostraram que não diferem significativamente dos dados do milho convencional Isohíbrido. Os dados agrônômicos do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 mostraram também que não há diferença significativa do milho convencional Isohíbrido.

O uso extensivo do milho MON 89034, milho TC1507, milho NK603 e milho MIR162, por vários anos, em vários países, com grande volume de consumo na alimentação humana e animal, sem qualquer evidência de

efeito adverso à saúde, e os resultados de estudos de composição do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162, em experimentação realizada no país, demonstram o potencial de uso seguro do produto, como o milho convencional, para a alimentação humana e animal.

O fenótipo das plantas transformadas contendo os genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *cry1F*, *vip3Aa20*, *pmi*, *pat* e *cp4 epsps* é similar ao fenótipo da planta original convencional no que se refere aos órgãos reprodutivos, à duração do período de desenvolvimento da planta e ao seu método de propagação (itens 2.2.1. a 2.2.3., deste Anexo). Além disso, o milho combinado contendo os genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *cry1F*, *vip3Aa20*, *pmi*, *pat* e *cp4 epsps*, assim como o milho convencional, não apresenta tendência a proliferar-se como planta daninha, e não se constitui numa espécie invasiva em ecossistemas naturais.

Os genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *cry1F* e *vip3Aa20* conferem resistência à apenas alguns representantes da Ordem Lepidoptera, os genes *pat* e *cp4 epsps* conferem tolerância apenas aos herbicidas à base de glufosinato de amônio e glifosato, respectivamente, e o gene *pmi* é apenas o marcador de seleção das plantas transformadas através da interconversão de manose-6-fosfato/frutose-6-fosfato, de forma que o milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 não codifica proteínas com outros efeitos (nematicida, fungicida, bactericida, etc.). Tanto os genes do tipo *cry* quanto o gene *pat* estão presentes em diversos eventos já aprovados comercialmente em vários países, inclusive no Brasil. Genes bastante semelhantes em estrutura e mecanismo de ação já vêm sendo amplamente utilizados na agricultura mundial há mais de 15 anos, sem que se tenha reportado qualquer ocorrência de efeito adverso associado à expressão destes genes.

Nenhum efeito adverso causado pelo cultivo do milho combinado MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 é esperado para os organismos indicadores relevantes, quando comparado ao milho convencional, baseado em estudos de impacto do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 em organismos não alvo realizados no Brasil (item 8 do dossiê apresentado pela empresa)

De antemão, não se prevê nenhum efeito adverso em decorrência da interação do milho combinado MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 com outros organismos presentes no meio ambiente, inclusive insetos, aves e mamíferos

Os resultados das comparações de sequências entre as proteínas Cry1F 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 milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 (itens 9 e 10, do dossiê apresentado pela empresa).

Para as informações sobre os genes *cry1A.105* e *cry2Ab2* presentes no milho MON 89034, favor consultar o processo de liberação comercial submetido pela Monsanto do Brasil Ltda. e Dow AgroSciences Industrial Ltda., aprovado pela CTNBio (Processo 01200.001455/2010-39, Parecer Técnico nº 2753/2010). Publicado no Diário Oficial da União em 17/12/2010, Seção 1, página 46).

Para as informações sobre o gene *cp4 epsps* presente no milho NK603, favor consultar o processo de liberação comercial submetido pela Monsanto do Brasil Ltda. e Dow AgroSciences Industrial Ltda., aprovado pela CTNBio (Processo 01200.001455/2010-39, Parecer Técnico nº 2753/2010). Publicado no Diário Oficial da União em 17/12/2010, Seção 1, página 46).

Para as informações sobre os genes *vip3Aa20* e *pmi*, presentes no milho MIR162, favor consultar o processo de liberação comercial submetido pela Syngenta Seeds Ltda. e aprovado pela CTNBio (Processo 01200.007493/2007-08, Parecer Técnico nº 2042/2009, publicado no Diário Oficial da União em 28/09/2009, Seção 1, página 22), conforme carta de acesso submetida à CTNBio pela Syngenta Seeds Ltda.

O cultivo do milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162 é esperado ser tão seguro à microbiota do solo quanto o cultivo do milho convencional, uma vez que não existe nenhum mecanismo conhecido, ou demonstração definitiva que o DNA possa se transferir de plantas para microrganismos (Calgene, 1993a; Conner *et al.*, 2003; FDA, 1994; Redenbaugh *et al.*, 1994; Schluter *et al.*, 1999; WHO, 1993a).

Mesmo que pudesse ocorrer uma transferência, os genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *cry1F*, *vip3Aa20*, *pmi*, *pat* e *cp4 epsps*, presentes no milho MON 89034 × TC1507 × NK603 × MIR162, não seria esperado risco à saúde

humana ou ao meio ambiente, com base nos dados de segurança apresentados no pedido de aprovação comercial.

Os genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *cry1F*, *vip3Aa20*, *pmi*, *pat* e *cp4 epsps*, que codificam as proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, VIP3Aa20, PMI, PAT e CP4 EPSPS, respectivamente, são provenientes de microrganismos de solo. Os genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *cry1F* e *VIP3Aa203Aa20* são provenientes do *Bacillus thuringiensis*, o gene *pmi* é proveniente de *Escherichia coli*, o gene *pat* é proveniente de *Streptomyces viridochromogenes* e o gene *cp4 epsps* é proveniente de *Agrobacterium tumefaciens*. Esses organismos ocorrem naturalmente no solo e estão presentes na natureza.

Sendo assim, os organismos potencialmente receptores não apresentariam um risco maior que os microrganismos presentes no ambiente, a partir dos quais se originaram os genes e aos quais seres humanos e animais já estão expostos.

Os milhos geneticamente modificados resistentes a lepidópteros praga se mostraram eficientes no controle de *A. ipsilon*, *S. cosmioides*, *S. frugiperda* e *H. zea*, apontadas como pragas chave no período da pós-emergência, na fase vegetativa e reprodutiva das plantas de milho.

Vários dados sugerem que não há interação entre os transgenes que possam causar efeitos adversos como descrito a seguir: As proteínas PAT, CP4 EPSPS, Cry1F, Cry1A.105, Cry2AB2, PMI e VIP3Aa20, presentes no milho MON 89034 x TC1507xNK603 x M1R162, possuem ação específica sob seus respectivos substratos/receptores. Os resultados dos estudos conduzidos com o milho MON 89034 X TC1507 X NK603 x M1R1 62, em conjunto com o seu correspondente convencional, mostram que a presença dos genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *pat*, *cry1F*, *cp4 epsps*, *pmi* e *vip3Aa20* não produziu alterações em características das plantas hospedeiras, incluindo características morfológicas, agronômicas e reprodutivas, indicando ausência de interações entre estes genes e com os genes endógenos do milho. As análises de composição nutricional do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 X M1R162 em comparação com o milho convencional mostram semelhança entre os dois produtos com relação ao teor de proteínas, fibras, carboidratos, óleos, cinzas, minerais, ácidos graxos, aminoácidos, vitaminas e componentes bioativos (Anexo III) e que é substancialmente equivalente ao milho convencional. Os estudos de expressão das proteínas demonstram um padrão consistente de expressão das proteínas PAT, CP4 EPSPS, Cry1F, Cry1A.105, Cry2AB2, PMI e VIP3Aa20 em diversos tecidos e locais distintos de cultivo, quando comparando o milho MON 89034 x TC1507 x NK603 X M1R162 com seus componentes individuais, o milho MON 89034, milho TC1507, milho NK603 e milho M1R162 (Anexo II). A análise dos dados agronômicos obtidos mostra que não há diferença morfológica, agronômica ou reprodutiva entre o milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 e o seu correspondente convencional (Anexo IV). Dessa forma, analisando os diferentes tipos de dados obtidos, pode-se concluir que não há qualquer indício que os genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *pat*, *cry1F*, *cp4 epsps*, *pmi* e *vip3Aa20*, presentes no milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162, possam ocasionar efeitos adversos à saúde humana, animal ou ao meio ambiente.

PARECER:

A equivalência substancial do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 comparativamente ao milho convencional, e a rápida desnaturação e degradação das proteínas VIP3AA20, CRY1F, PAT, CRY2Ab2, CRY1A.105 e CP4 EPSPS durante o processamento, são dados que corroboram com a segurança do consumo do milho GM e/ou de seus produtos derivados. Análises de composição nutricional do milho combinado MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162, em comparação ao milho convencional, mostram semelhança entre os dois produtos com relação ao teor de proteínas, fibras, carboidratos, óleos, cinzas, minerais, ácidos graxos, aminoácidos, vitaminas, metabólitos e antinutrientes.

Os níveis de componentes bioativos, quando quantificados nas amostras de milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162, 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 CRY1F, VIP e PAT com relação às proteínas conhecidas como alergênicas ou tóxicas.

A modificação genética do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 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, o milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 não expressa qualquer proteína tóxica ou alergênica conhecida, corroborando que o consumo dos seus grãos 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/ou animal pela ingestão deste OGM e seus derivados.

Milho comercial contendo os eventos singulares MON 89034, TC 1507 e NK603, ou combinações desses eventos, juntamente com outros eventos em cultivo no Brasil, representaram em 2012 cerca de 74,9 % do total de milho plantado no país (www.celeres.com.br), sem que tenha sido constatado qualquer efeito adverso à saúde humana e animal.

A transferência de material genético proveniente de grãos de milho ou de produtos feitos à partir de milho, para microrganismos no sistema gastrointestinal humano é remota. Em um *workshop* da OMS (WHO, 1993), sobre a segurança de marcadores para seleção de recombinantes em plantas, cientistas de vários países, presentes no evento, revisaram a informação sobre transferência horizontal de genes.

A composição nutricional de uma planta como o milho que vem sendo usada há muito na alimentação humana e animal é uma componente importante para se inferir sobre a biossegurança de alterações genéticas decorrentes de programas de melhoramento genético ou de modificações introduzidas por meio de transformação genética.

O milho domesticado por civilizações pré-colombianas da América, tornou-se seu principal alimento, estimulando as civilizações Maias, Astecas e Incas a criar centenas de raças e variedades de milho, posteriormente transformadas em híbridos de alta produtividade por melhoristas de plantas em todo mundo. Essas alterações não têm causado efeitos adversos à saúde e por isso o cereal circula livremente por mercados do globo, como uma das principais *commodities* agrícola, sem necessidade de especificação de sua composição química.

Estes estudos de composição nutricional, expressão das proteínas VIP3AA20, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT, CP4 EPSPS e dados agrônômicos, foram realizados em vários ambientes do Brasil e da Argentina, comparando-se o evento combinado MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 com seus componentes, evento singular MIR162 e MON 89034 x TC1507 x NK603. Os resultados demonstraram que não ocorre interação entre o efeito dos genes *VIP3Aa20*, *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *cry1F*, *pat* e *cp4 epsps*, quando são integralizados no evento combinado através de cruzamentos, em um programa de melhoramento genético tradicional.

A proteína CRY1F tem modo de ação e toxicidade altamente específica para alguns lepidópteros praga. Nenhuma evidência indica que proteínas originárias de *Bacillus thuringiensis* são causadoras de qualquer efeito adverso à saúde humana e animal (EPA, 1995a; McClintock *et al.*, 1995; EPA, 1996). Os resultados obtidos para a proteína CRY1F confirmam a ausência de atividade tóxica aguda em mamíferos, devido ao seu mecanismo de ação mediado por receptores específicos presentes unicamente nos insetos alvo.

A proteína CRY1F é rapidamente degradada sob as condições de fluidos gástricos simulados, conforme demonstrado por géis desnaturantes SDS-PAGE (Korjagin & Ernest, 2000; Schafer & Korjagin, 2001; Herman *et al.*, 2003). A proteína CRY1F é susceptível ao calor, uma vez que sua atividade biológica é interrompida após exposição à temperatura de 75° C por 30 minutos (Herman, 2000).

Nenhuma homologia significativa foi observada entre as proteínas CRY1F e PAT em relação às proteínas conhecidas como alergênicas. Em estudos baseados nas diretrizes formuladas por Gendel (1998) e FAO/OMS (2001), não foram identificados elementos que demonstrem similaridades entre essas proteínas e as proteínas alergênicas conhecidas. Após mais de 30 anos de uso comercial, não se conhece qualquer ocorrência de reações alérgicas decorrentes de produtos inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* (EPA, 1995).

Usando um programa de avaliação de sequências de aminoácidos elaborado pelos Comitês da FAO/WHO Expert Consultation (2001) e Codex Alimentarius (Codex *Ad Hoc* Open-ended Working Group on Allergenicity, 2001) mostrou-se que a proteína VIP não tem homologia significativa com alérgenos conhecidos. A proteína PAT foi amplamente estudada em organismos geneticamente modificados e nenhum

potencial alergênico foi identificado (EPA, 1995b; EPA, 1997; Canadian Food Inspection Agency, 1998; SCP, 1998; OECD, 1999). A proteína PAT não compartilha homologia com toxinas ou proteínas alergênicas (Meye, 1999; Cressman, 2003), além de sofrer rápida degradação quando exposta aos fluidos gástricos simulados (OECD, 1999, Annex 4). Além disso, registra-se mais de 10 anos de uso seguro de plantas portadoras deste gene, em vários países.

Resultados semelhantes têm demonstrado a biossegurança das proteínas CRY1A.105, CRY2Ab2 e CP4 EPSPS na alimentação humana e/ou animal.

Os estudos de segurança das proteínas CRY1A.105 e CRY2AB2 do milho MON 89034 foram mostradas no processo 01200.003326/2008-61, aprovado pela liberação comercial (Parecer Técnico 2052/2009), e os estudos de segurança da proteína CP4 EPSPS do milho NK603 foram mostradas no processo número 01200.002293/2004-16, aprovado pela liberação comercial (Parecer Técnico 1596/2008).

Com base na grande exposição das proteínas CRY1F, PAT, CRY1A.105, CRY2Ab2 e CP4 EPSPS na alimentação humana e/ou animal e no meio ambiente, e na segurança alimentar da proteína MIR162 foi possível concluir que o milho combinado MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 não expressa proteínas tóxicas ou alergênicas conhecidas.

Em estudos realizados com base nas diretrizes de Gendel (1998) e FAO/OMS (2001), não foi possível obter elementos para se suspeitar de similaridades entre as sequências das proteínas do evento TC1507 e as sequências das proteínas alergênicas conhecidas. Após mais de 30 anos de uso comercial, não se conhece qualquer ocorrência de reações alérgicas decorrentes de produtos inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* (EPA, 1995a).

Mais recentemente, estudos de bioinformática têm demonstrado que nenhuma homologia significativa tem sido observada entre as proteínas VIP3AA20, CRY1F e PAT e proteínas conhecidas como alergênicas.

As proteínas VIP3AA20, CRY1F e PAT sofrem rápida desnaturação com o aumento da temperatura por ocasião do processamento do alimento, e as proteínas e os seus genes codificadores são rapidamente degradados respectivamente em pequenos fragmentos de DNA ou em peptídeos quando expostas ao trato gastrointestinal de animais ou seres humanos. Além disso, genes ou proteínas biologicamente ativos são constituintes comuns de dietas, as quais homens e animais estão diariamente expostos, independentemente ou não da presença de transformação genética nos alimentos.

A proteína CRY1F é rapidamente degradada sob as condições de fluidos gástricos simulados, conforme demonstrado por géis desnaturantes SDS-PAGE (Korjagin & Ernest, 2000; Schafer & Korjagin, 2001; Herman *et al.*, 2003). A proteína CRY1F é susceptível ao calor, uma vez que sua atividade biológica é interrompida após exposição à temperatura de 75 °C por 30 minutos (Herman, 2000a).

As proteínas CRY1A.10, CRY2AB2 do evento MON 89034 e a proteína CP4 EPSPS do evento NK603 são seguras para a alimentação humana e animal, características que contribuíram para a aprovação comercial do milho MON 89034 (Parecer Técnico CTNBio 2052/2009) e do milho NK603 (Parecer Técnico CTNBio 1596/2008), produtos estes aprovados anteriormente em vários países para cultivo e consumo humano e animal.

A grande margem de exposição e alta ingestão das proteínas do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 para atingir o nível de efeito não observado (NOEL) na alimentação humana e/ou animal, e os resultados de ensaios de alimentação animal e de estudos toxicológicos, tornou possível concluir que o milho combinado MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 não expressa proteínas tóxicas ou alergênicas conhecidas, sendo tão seguro para o consumo humano e animal quanto o milho convencional e seus produtos.

O milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 não produz toxinas ou metabólitos que causem efeito ao consumidor, animal ou humano, sendo similar ao milho convencional com relação a essas características. Os resultados de estudos de alimentação com vários animais consumindo dieta com milho contendo as proteínas presentes nos eventos MIR162, TC1507, MON 89034 e NK603 confirmam a ausência de efeitos adversos à saúde animal, como demonstrado em detalhe neste dossiê apresentado pela empresa.

Estudo das características agronômicas do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162

realizado no Brasil: o propósito desse estudo foi determinar se as características agronômicas do milho geneticamente modificado MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 é comparável ao milho controle convencional e aos milhos comerciais, milho MON 89034 x TC1507 x NK603 (PowerCore) e milho M1R162, utilizados como referência. O milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 e milho controle convencional envolveram híbridos de milho de mesmo background genético, com o objetivo de permitir a análise do efeito dos diferentes eventos nas características agronômicas das plantas.

A substância teste foi constituída de grãos de milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162. O controle (tratamento 1) foi amostras de grãos de milho convencional, portanto não geneticamente modificado, de mesmo background genético da substância teste, por isso denominado Isohíbrido. Adicionalmente, os milhos comerciais (tratamentos 3 e 4) foram considerados substâncias de referência e também por serem os eventos parentais do milho MON 89034 x TCI 507 X NK603 X M1R162. O delineamento experimental deste estudo foi o de blocos casualizados com 4 tratamentos e 3 repetições, sendo um tratamento com OGM sob regulamentação, 2 tratamentos com híbridos comerciais e um Isohíbridos. As parcelas experimentais foram de 7 linhas de 5 metros de comprimento, com espaçamento de 0,5 metros entre linhas. Os ensaios foram instalados nas Unidades Operativas de Montividiu (GO), Indianópolis (MG), Conchal (SP) e Palotina (PR), na Safrinha de 2015, em Liberação Planejada no Meio Ambiente processo número 01200.001455/2014-62, aprovado pela CTNBio. As sementes de milho teste e controle foram plantadas na proporção de 25 sementes por linha, deixando após o desbaste 1 (uma) planta a cada 20 centímetros de distância. Várias características das plantas foram avaliadas nos 4 tratamentos das 4 localidades para um estudo comparativo entre as plantas geneticamente modificadas e o controle convencional. Os seguintes parâmetros foram avaliados: sand final, vigor da planta, dano de inseto, altura da planta, altura da espiga, florescimento masculino, florescimento feminino, formato do pólen após 30, 60, 90 e 120 minutos, cor do pólen após 30, 60, 90 e 120 minutos, incidência de doenças, quebramento, tombamento, staygreen, dias para maturidade, umidade do grão e produção.

Análise estatística

A análise de variância foi conduzida entre locais (análise combinada) para os dados agronômicos usando um modelo misto (SAS Institute Inc., 2011). A entrada (tratamento) foi considerada efeito fixo, e local, bloco dentro de local e a interação entrada versus local foram consideradas efeitos aleatórios. Contrastes pareados foram feitos entre as entradas de milho controle e o milho MON 89034 x TC1 507 x NK603 x MIRI 62 usando testes t. Diferenças significativas foram estimadas a nível de 95% de confiança. A análise estatística foi feita para 22 características agronômicas e uma foi excluída por falta de variabilidade. Nesse estudo foram feitas 3 comparações por analito: milho MON 89034 x TCI 507 x NK603 x M1R162 e milho Isohíbrido; milho MON 89034 x TC1507 x NK603 e milho Isohíbrido; e milho M1R162 e milho Isohíbrido, totalizando 66 comparações, feitas na análise agrônômica combinada de locais. Como a probabilidade de se detectar uma ou mais diferenças falsas com base em valores de P não ajustados (taxa de erro experimental) foi de (10,9566) 96,613%, os valores de P foram ajustados no teste t, para permitir uma melhor discriminação de diferenças verdadeiras entre os tratamentos. Para tanto, foi utilizado o procedimento de Taxa de Falso Positivo - FDR (Benjamini & Hochberg, 1995). Diferenças nos 3 contrastes pareados foram consideradas significativas quando o valor ajustado de P pelo método FDR foi menor que 0,05. Como conclusão destas análises foi constatado que para a análise combinada das localidades estudadas, nenhuma diferença foi observada entre as médias do milho controle Isohíbrido e a do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162, do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 e do milho M1R162, para as 22 características agronômicas avaliadas. Todos os valores de médias das características agronômicas ficaram dentro dos valores mínimos e máximos dos milhos comerciais MON 89034 x TC1507 x NK603 e M1R162, usados como referência. Os resultados desse estudo demonstram equivalência agrônômica entre o milho controle não transgênico (Isohíbrido) e o milho híbrido transgênico MON 89034 x TC1507 X NK603 X M1R162.

Estudo das características agronômicas do milho GM realizado na Argentina: Foram conduzidos ensaios para avaliação de características agronômicas do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 (sem pulverização e pulverizado com glifosato e glufosinato de amônio), milho M1R162, milho MON 89034, milho TC1507, milho NK603, milho Isohíbrido convencional e de milhos híbridos comerciais usados como referência. Os ensaios foram realizados na Argentina, em 8 localidades (Berdier, Carmen de Areco, Ines Indart, El Crisol, Los Indios, San Patricio, San Pedro e Tacuari) na safra 20 14/2015. Foram

avaliadas neste estudo um total de 22 características agronômicas das plantas para investigar a equivalência do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR1 62 (com e sem aplicação de glifosato e glufosinato) ao milho não transgênico, denominado Isohíbrido, e com as referências comerciais. Os resultados das avaliações agronômicas do milho MON 89034 x TCI 507 X NK603 X MIRI 62 (com e sem pulverização de glifosato e glufosinato) foram estatisticamente indistinguíveis do Isohíbrido ou ficaram dentro dos valores mínimos e máximos dos milhos comerciais (referência). Baseado nestes resultados, foi concluído que o milho MON 89034 x TC1507 x NK603 X MIRI 62 (com e sem pulverização de glifosato e glufosinato) é agronomicamente equivalente ao milho não transgênico.

A caracterização do híbrido de milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 abrangeu três categorias de dados gerais: 1) germinação das sementes, dormência, e emergência; 2) crescimento vegetativo; e 3) desenvolvimento reprodutivo. Os dados agronômicos foram coletados a partir de estudos de campo realizados por técnicos que estão familiarizados com a produção e avaliação de milho. Em cada uma dessas avaliações, o milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 (não pulverizado e pulverizado com glifosato e glufosinato de amônio) foi comparado ao controle não transgênico (Isohíbrido). Além disso, 6 híbridos comerciais foram incluídos para fornecer dados comparativos que sejam representativos da variabilidade do milho híbrido comercial, existente para cada característica. Os dados coletados a partir dos híbridos comerciais de referência forneceram elementos para interpretação dos resultados. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre o milho controle e o milho MON 89034 x TC1507 x NK603 < M1R162 não pulverizado e pulverizado, para 21, das 22 características agronômicas avaliadas, com base no ajuste de P da Taxa de Falso Positivo. O resultados sugerem que para todas as características agronômicas do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162, com ou sem pulverização de herbicidas, ficaram dentro dos intervalos observados nas referências comerciais e portanto são equivalentes do ponto de vista agrônomo.

Em relação a possíveis efeitos em organismos não alvo indicadores relevantes (simbiontes, predadores, polinizadores, parasitas ou competidores do milho combinado MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 nos ecossistemas onde se pretende efetuar o seu cultivo, em comparação com o organismo parental do em um sistema de produção convencional: nenhum efeito adverso causado pelo cultivo do milho combinado MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR1 62 é esperado para os organismos indicadores relevantes, quando comparado ao milho convencional, baseado em estudos de impacto do milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 em organismos não alvo realizados no Brasil (item 8 deste Anexo). De antemão, não se prevê nenhum efeito adverso em decorrência da interação do milho combinado MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 com outros organismos presentes no meio ambiente, inclusive insetos, aves e mamíferos. Como já informado, estudos realizados no Brasil demonstraram que o milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162 não difere do milho convencional em características agronômicas, morfológicas, reprodutivas, assim como é equivalente em composição química e nutricional.

Em relação aos impactos negativos e positivos aos organismos alvo e não alvo que poderão ocorrer com a liberação do milho GM: Foram realizados estudos para avaliar o possível impacto do milho geneticamente modificado sobre a dinâmica populacional de artrópodes não alvo. Os experimentos foram conduzidos em Conchal (SP) e Montividiu (GO), Indianópolis (MG), e Palotina (PR), em Liberação Planejada no Meio Ambiente aprovada pela CTNBio, processo no. 01200.001455/2014-62. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com 3 tratamentos e 4 repetições. As parcelas foram constituídas por 17 linhas de 15 metros de comprimento, com 0,5m de espaçamento entre linhas. Os tratamentos foram: (1) milho MON 89034 x TC1507 x NK603 x M1R162; (2) milho MON 89034 x TC1507 x NK603 (liberado comercialmente); e (3) Isohíbrido. Foram realizados vários experimentos nas localidades descritas e coletivamente os resultados demonstram que o impacto do milho GM aos organismos não alvo é similar ao do milho convencional. Apesar de terem sido observadas diferenças pontuais nas populações estudadas, os padrões não se repetiram nas localidades, constituindo-se em respostas biológicas às condições locais, fatos pontuais que não representam a dinâmica dos agroecossistemas em estudo. Assim, é possível afirmar que não são esperados efeitos adversos sobre artrópodes não alvo em cultivos do milho geneticamente modificado.

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”.

Portanto:

1. Considerando todos os resultados apresentados pela empresa requerente e que o milho MON 89034 x TC1507 x NK603 já foi aprovado por esta subcomissão em 2010 e ainda, que o milho MIR162 foi aprovado por esta subcomissão em 2009.
2. Considerando que a CTNBio aprovou vários milhos geneticamente modificados contendo eventos com a proteína CRY e que até o presente momento não há relato de qualquer efeito para a saúde humana/animal, ou ao ambiente.
3. Considerando que coletivamente os dados apresentados sugerem que o milho GM em análise não difere do milho convencional, exceto pela presença e expressão dos genes cp4 epsps e pat, que conferem tolerância aos herbicidas glifosato e glufosinato de amônio, respectivamente, e dos genes cryIF, cryIA 105, cry2Ab2 e vip3Aa20 que conferem resistência a determinados insetos, além do gene pmi que foi utilizado para seleção das plantas transformadas.
4. Considerando que o evento MON 89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 foi bem caracterizado molecularmente, tendo sido atestada a manutenção da integridade das construções gênicas herdadas dos respectivos parentais durante o processo de melhoramento genético clássico;
5. Considerando que existem evidências de não ocorrer interação entre as vias metabólicas em que atuam as proteínas VIP3AA20, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT e CP4 EPSPS;
6. Considerando que não foram identificados efeitos pleiotrópicos ou epistáticos nos eventos parentais e em conjunto;
7. Considerando que a expressão das proteínas VIP3AA20, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT e CP4 EPSPS no milho MON 89034 x TC 1507 x NK603 x MIR162 não é significativamente diferente da expressão observada nos eventos parentais separadamente;
8. Considerando que não há indícios de que as proteínas expressas possam causar alergia ou intoxicação em humanos e animais;
9. Considerando que as avaliações agrônômicas e de eficácia do milho MON 89034 x TC 1507 x NK603 x MIR162 indicaram que a combinação destes eventos por métodos de melhoramento genético clássico (cruzamentos sexuais) não levou à expressão de qualquer outra característica diferente de resistência a certos insetos, tolerância ao herbicida glifosato e a herbicidas cujo glufosinato de amônio é o princípio ativo;
10. Considerando os critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco de matérias-primas geneticamente modificadas;
11. Considerando a manutenção da longevidade da tecnologia Bt por diferentes modos de ação no dossiê apresentado e ainda;
12. Considerando a demonstração de não haver impacto significativo para organismos não-alvo indicadores.

Conclusão

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 saúde humana e animal e ambiental e concluiu que o Milho MON 89034 x TC1507 x NK 603 x MIR162, sendo seu consumo seguro para a saúde humana e animal e que não causa efeitos ambientais deletérios significativos.

Brasília, 09 de março de 2017.

Edivaldo Domingues Velini

Presidente da CTNBio

Relatório de vistas ao processo

O Dr. Antônio Inácio Andrioli na 199ª Reunião Ordinária da CTNBio em 09 de fevereiro de 2017 solicitou vistas ao processo.

O pedido de vistas do Dr. Antônio Inácio Andrioli foi apresentado na 200ª Reunião Ordinária da CTNBio em 09 de março de 2017 e o parecer foi pelo indeferimento do processo.

Deliberação

A CTNBio decidiu por dezoito votos favoráveis pela aprovação e quatro votos contrários do Dr. Isaque Medeiros Siqueira, Dr. Hur Ben Corrêa da Silva, Dr. João Dagoberto dos Santos e Dr. Mohamed Ezz El-Din Mostafa Habib.



Documento assinado eletronicamente por **Edivaldo Domingues Velini, Pesquisador**, em 23/04/2017, às 19:37, conforme art. 3º, III, "b", das Portarias MC nº 89/2014 e MCTIC nº 34/2016.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <http://sei.mctic.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador **1784503** e o código CRC **7BEEE62E**.