

**COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA****PARECER TÉCNICO Nº 1568/2023/SEI-CTNBio - Membros****PARECER TÉCNICO:8779/2023**

Processo: 01245.015143/2023-19

Data de Protocolo: 10/07/2023

Assunto: Liberação Comercial do milho geneticamente modificado de baixa estatura MON 94804 (milho MON 94804)

Requerente: Monsanto do Brasil Ltda.

CQB: 003/96

Endereço: Rua Domingos Jorge, 1100 - Prédio 503, 3º andar - Setor A, São Paulo (SP).

Extrato Prévio: 8970/2023

Decisão: Deferido

Reunião: 266ª Reunião Ordinária ocorrida em 09/11/2023

Identificação do OGM:

Designação do OGM: milho MON 94804.

Espécie: *Zea mays* L.

Característica Inserida: milho geneticamente modificado com característica de baixa estatura.

Método de introdução da característica: O milho MON 94804 foi desenvolvido utilizando-se o método de transformação mediado por *Agrobacterium* e o plasmídeo PV-ZMAP527892.

Uso proposto: liberação no meio ambiente, uso na alimentação humana e animal, seu uso comercial, e quaisquer outras atividades relacionadas a esse OGM e quaisquer progênies dele derivadas.

Fundamentação Técnica:

Trata-se de solicitação da empresa Monsanto do Brasil Ltda., que na forma da Lei 11.105/2005 e da Resolução Normativa nº 32/2021, requer emissão de Decisão Técnica relativa à biossegurança da liberação comercial bem como a isenção do monitoramento pós-liberação comercial do milho geneticamente modificado de baixa estatura MON 94804 (designado milho MON 94804). O milho MON 94804, que apresenta a característica de baixa estatura, contém um cassete de supressão que expressa uma sequência de repetição invertida projetada para atingir os genes alvo endógenos de ácido giberélico 20 oxidase (*GA20ox*) do milho, *ZmGA20ox3* e *ZmGA20ox5*.

O transcrito repetido invertido expresso é reconhecido pela maquinaria de RNA de interferência endógeno (RNAi), resultando na regulação negativa da expressão dos genes *GA20ox* alvo.

A supressão resulta na redução dos níveis de ácido giberélico/giberelina (GA) no colmo, levando a uma redução do comprimento do entrenó e, conseqüentemente, redução da altura total da planta em comparação com o milho controle convencional. O milho MON 94804 tem aproximadamente 1/3 de redução na altura da planta quando comparado ao milho controle convencional e foi desenvolvido para trazer benefícios agrônômicos e ambientais, incluindo redução do acamamento e do quebraamento. Um outro benefício importante que o milho MON 94804 pode fornecer é o acesso ao campo durante toda a safra pelos produtores que utilizam equipamentos terrestres para manejo e pulverização. A capacidade de acessar campos cultivados com milho de altura típica torna-se limitada quando as plantas crescem mais do que a altura padrão da haste do pulverizador de barra.

O acesso aos campos de milho MON 94804 durante toda a safra visa permitir uma aplicação mais precisa, oportuna e customizada de agroquímicos (por exemplo, fungicida) e/ou nutrientes essenciais (por exemplo, nitrogênio) do meio ao final da safra com equipamentos terrestres para manejo e pulverização. Assim, a aplicação otimizada dos insumos agrícolas pode reduzir ou eliminar a necessidade de aplicação aérea ou evitar a aplicação precoce de insumos não necessários. A aplicação otimizada e oportuna dos insumos agrícolas pode contribuir positivamente para a sustentabilidade ambiental da cultura do milho, com potencial redução de emissões de carbono ou gases de efeito estufa. O milho MON 94804 poderá ser combinado com eventos ou produtos contendo outras características, permitindo a obtenção de produtos comerciais. Quando comercializados, esses produtos de características combinadas fornecerão aos produtores proteção contra insetos-pragas de milho, tolerância a herbicidas, outras características que oferecem opções mais amplas ao produtor e o potencial para melhorar a proteção do rendimento.

O milho MON 94804 foi produzido por transformação de tecido de milho mediada por *Agrobacterium* utilizando o plasmídeo PV-ZMAP527892.

A transformação para a gerar o milho MON 94804 foi realizada na linhagem HCL301 (*Zea mays* L. subsp. *mays*). Esta é uma linhagem de grão amarelo dentado da propriedade da empresa do grupo heterótico Stiff Stalk que é melhor adaptado às regiões centrais do cinturão do milho americano.

Este plasmídeo contém um único DNA de transferência (T-DNA), que é delineado pelas regiões de extremidade direita e esquerda e o T-DNA final contém o cassete de supressão *GA20ox_SUP*.

O TDNA inserido inicialmente continha um cassete marcador de seleção *cp4 epsps* flanqueado por sítios *lox*. Após a transformação, utilizou-se recombinação *Cre/lox*, para selecionar a linhagem de milho MON 94804 excisada do marcador de seleção (o cassete marcador de seleção foi excisado cruzando o transformante com uma linhagem que expressa a recombinase Cre - a linhagem Cre foi transformada com o plasmídeo PVZMOO513642).

Subseqüentemente, segregação, seleção e triagem foram usados para isolar as plantas que continham o cassete de supressão *GA20ox_SUP* e não continham seqüências da matriz do plasmídeo de transformação, do cassete marcador de seleção *cp4 epsps* ou qualquer outra seqüência do plasmídeo PVZMOO513642 contendo o gene *cre*.

A caracterização da inserção do DNA no milho MON 94804 foi realizada usando uma combinação de sequenciamento, reação em cadeia da polimerase (PCR) e bioinformática.

Esta completa caracterização demonstrou que o milho MON 94804 possui apenas uma cópia do TDNA pretendido contendo o cassete de supressão *GA20ox_SUP*, a qual é herdada de forma estável ao longo de várias gerações de reprodução e segregada de acordo com os princípios das Leis de Mendel.

A seqüência presente no cassete de supressão *GA20ox_SUP* no milho MON 94804 expressa uma seqüência codificadora de miRNA, *GA20ox_SUP*, que foi projetada com seqüências de arroz (*Oryza sativa*) para fornecer a estrutura principal do transcrito inicial, além de seqüências de milho para fornecer uma seqüência de repetição invertida derivada a partir de seqüências codificadoras dos genes *ZmGA20ox3* e *ZmGA20ox5*.

O miRNA *GA20ox_SUP* foi expresso sob controle transcricional do promotor do vírus tungro baciliforme do arroz (RTBV), que mostrou o nível mais alto de expressão dentro dos entrenós no milho e baixa atividade nos tecidos reprodutivos, o que o torna uma ferramenta desejada para a supressão dirigida de GA nos tecidos vegetativos (Paciorek et al., 2022).

O transcrito repetido invertido expresso é reconhecido pela maquinaria endógena de RNAi, resultando na regulação negativa dos genes endógenos biossintéticos de ácido giberélico (GA), ZmGA20ox3 e ZmGA20ox5 (Paciorek et al., 2022). A supressão resulta na redução dos níveis de GA bioativo no colmo, levando a uma redução do comprimento dos entrenós e, conseqüentemente, redução da altura total da planta em comparação com o milho controle convencional.

Essas conclusões são baseadas em várias linhas de evidência:

- A caracterização molecular por Sequenciamento de Próxima Geração (NGS) demonstrou que o milho MON 94804 contém uma única inserção do T-DNA. Essas análises de sequências de todo o genoma forneceram uma avaliação abrangente para determinar a presença de sequências derivadas do plasmídeo PV-ZMAP527892 e demonstraram que o milho MON 94804 possui uma única inserção do T-DNA e que sequências da matriz do plasmídeo PV-ZMAP527892, do marcador de seleção *cp4 epsps* ou quaisquer sequências do plasmídeo PVZMOO513642 não foram detectadas;
- Sequenciamento dirigido (PCR *locus*-específico, sequenciamento e análises de DNA) do milho MON 94804 caracterizou a sequência completa do inserto único do T-DNA do plasmídeo PV-ZMAP527892, o DNA flanqueador adjacente e as junções flanqueadoras nas regiões 5' e 3' do inserto. Esta análise confirmou que a sequência e organização do DNA são idênticas à região do T-DNA correspondente do plasmídeo PV-ZMAP527892. Além disso, a organização genômica no local de inserção foi avaliada comparando as sequências que flanqueiam a inserção do T-DNA no milho MON 94804 com a sequência do local de inserção no milho controle convencional. Esta análise determinou que não ocorreu nenhum rearranjo principal no DNA no local de inserção no milho MON 94804 após a integração do T-DNA;
- A análise de estabilidade geracional por NGS demonstrou que o único inserto do T-DNA do plasmídeo PV-ZMAP527892 foi mantido por cinco gerações de reprodução, confirmando assim a estabilidade do T-DNA no milho MON 94804;
- Os dados de segregação confirmam que o T-DNA inserido segrega seguindo os padrões de herança mendeliana, o que corrobora a estabilidade da inserção demonstrada por NGS e estabelece de forma independente a natureza do T-DNA em um único *locus* cromossômico.

Tomados em conjunto, os protocolos realizados para a caracterização da modificação genética no milho MON 94804 demonstram que uma única cópia do T-DNA foi integrada de forma estável em um único *locus* do genoma do milho e que nenhuma sequência da matriz do plasmídeo PV-ZMAP527892, do marcador de seleção *cp4 epsps* ou do plasmídeo PV ZMOO513642 está presente no milho MON 94804.

O miRNA GA20ox_SUP produzido no milho MON 94804 é processado em um miRNA que leva à supressão da expressão gênica dos genes *ZmGA20ox* direcionados dentro da planta de milho.

A requerente aponta que uma extensa pesquisa na literatura não indica qualquer evidência para a presença da via biossintética GA ou genes *GA20ox* em humanos ou animais.

A inferência de que não se espera que a via biossintética de GA esteja presente no reino animal é apoiada pelos resultados dos estudos de bioinformática contra humanos e uma variedade de transcriptomas de organismos relacionados à agricultura, saúde ambiental ou outros organismos modelo.

Esses resultados indicam que não há alinhamentos de sequência perfeitos entre o miRNA GA20ox_SUP produzido pelo milho MON 94804 e os transcritos humanos ou animais. Há um número limitado de alinhamentos de sequência retornados dos vários conjuntos de dados que exibiram um alto grau de incompatibilidades de sequência (por exemplo, 4 incompatibilidades). **A baixa homologia de sequência a um número limitado de alinhamentos de sequência biologicamente irrelevantes, combinada com as barreiras fisiológicas e bioquímicas à exposição ao miRNA GA20ox_SUP, torna improvável, o potencial para supressão de genes não intencionais (*off-target*) ou outros efeitos adversos em humanos ou animais.**

Com base na natureza onipresente da supressão de RNAi utilizando RNAs endógenos em uma ampla variedade de espécies de plantas consumidas por humanos e animais, o longo histórico de consumo seguro de RNAs de várias fontes e a ausência de toxicidade ou alergenicidade do RNA dietético, o miRNA GA20ox_SUP expresso no milho MON 94804 apresenta riscos negligenciáveis para humanos e animais.

O peso da evidência com extensa informação da literatura e análises bioinformáticas, suporta a conclusão de que é improvável que o consumo do miRNA GA20ox_SUP em alimentos e rações derivados do milho MON 94804 cause danos a humanos ou animais.

As avaliações de segurança de produtos derivados da biotecnologia seguem o processo de avaliação de segurança comparativa no qual a composição nutricional de grãos e/ou outras commodities agrícolas oriundos de produtos derivados de biotecnologia é comparada à composição nutricional do controle convencional apropriado, o qual possui um histórico de uso seguro.

Os resultados da avaliação composicional mostraram que não existem diferenças biologicamente significativas entre o milho MON 94804 e o milho controle convencional, o que apoia a conclusão de que o milho MON 94804 é composicionalmente equivalente ao milho controle convencional. Em resumo, a avaliação abrangente do miRNA GA20ox_SUP no milho MON 94804 demonstra sua presença não impõe nenhum risco significativo à segurança deste milho geneticamente modificado quando utilizado na alimentação humana e animal.

Os materiais controle convencionais desenvolvidos para uso como comparadores nos estudos de avaliação de segurança foram baseados no tipo de estudo conduzido e no histórico genético do material de teste. Quando apropriado, milhos híbridos comerciais (híbridos de referência) foram usados para estabelecer um intervalo de variação representativo do milho comercial nos Estados Unidos ou no Brasil.

Um importante conceito na avaliação de risco é o potencial de uma cultura derivada da biotecnologia como planta daninha, o qual é avaliado com base na familiaridade. O conceito de familiaridade é baseado no fato de que a planta derivada da biotecnologia é desenvolvida a partir de um híbrido ou variedade convencional de plantas cujas propriedades biológicas e potencial de planta daninha são bem conhecidos. A familiaridade considera a biologia da planta, a característica introduzida, o ambiente receptor e as interações entre esses fatores. Isso fornece uma base para avaliação de risco comparativa entre uma planta derivada da biotecnologia e a planta controle convencional.

Assim, as avaliações fenotípicas, agrônômicas e das interações ambientais do milho MON 94804 incluíram o milho controle convencional para comparação com o milho geneticamente modificado. Tais avaliações usaram uma abordagem de peso de evidência e consideram comparações entre o MON 94804 e o milho controle convencional no que diz respeito à reprodutibilidade, magnitude e direcionalidade. A comparação com referências comerciais cultivadas concomitantemente estabeleceu a variabilidade natural para o milho e forneceu um contexto a partir do qual se pode avaliar quaisquer diferenças significativas em maiores detalhes.

As avaliações incluíram as características de germinação e dormência das sementes e características do pólen em laboratório, bem como características agrônômicas e fenotípicas e respostas das plantas a estresses abióticos, doenças e artrópodes-praga no campo.

Os resultados da avaliação fenotípica, agrônômica, interações ambientais e abundância de artrópodes dos estudos de campo conduzidos no Brasil durante a safra 2021/2022 indicaram que o milho MON 94804 não possui características de plantas daninhas, suscetibilidade ou tolerância aumentadas a estresses abióticos específicos, doenças ou artrópodes-praga, ou características que confeririam um risco aumentado de planta daninha em comparação com o milho convencional.

Além disso, é improvável que o milho MON 94804 represente um risco adicional para os organismos benéficos (artrópodes não alvo) para a agricultura além daqueles representados pelo milho convencional. O miRNA GA20ox_SUP expresso no milho MON 94804 não possui atividade inseticida contra pragas alvo da cultura, portanto não tem ação sobre insetos ou outros organismos e todos os organismos que interagem com esse milho são considerados organismos não alvo.

Considerações

Os dados e informações apresentados no presente documento demonstram que o milho MON 94804 é agrônômica e fenotipicamente semelhante ao milho cultivado comercialmente, com exceção da nova

característica intencionalmente introduzida. Além disso, os dados e as informações apresentados demonstram que o milho MON 94804 não deve representar um risco aumentado de se tornar uma planta invasora ou planta daninha quando comparado ao milho cultivado comercialmente. A segurança alimentar e ambiental do milho MON 94804 foi confirmada com base em várias linhas de evidência bem estabelecidas:

- O milho é uma cultura familiar que não possui nenhum dos atributos comumente associados às plantas daninhas e possui um longo histórico de consumo seguro. Portanto, o milho controle convencional usado no processo de transformação foi incluído nos estudos para servir como base de comparação adequada para o milho MON 94804;
- A caracterização molecular detalhada do DNA inserido no milho MON 94804 demonstrou uma única cópia intacta da inserção do T-DNA em um único *locus* dentro do genoma do milho e que ambas as junções se originam do mesmo *locus* do genoma do milho MON 94804, ligadas por uma sequência de DNA contígua, conhecida e esperada;
- O histórico de uso seguro de ácidos nucleicos, incluindo miRNA, em uma ampla variedade de alimentos e rações amplamente consumidos, sugere que não há efeito biológico negativo do miRNA ingerido e suporta a segurança do milho MON 94804 para humanos e animais;
- Uma avaliação extensiva das características agronômicas e fenotípicas do milho MON 94804 e das interações ambientais demonstra que este milho geneticamente modificado não possui risco aumentado de características de planta daninha quando comparado ao milho convencional;
- Uma avaliação do potencial impacto para organismos não alvo (NTOs), incluindo organismos benéficos para a agricultura, indica que não se espera que o milho MON 94804 tenha efeito adverso sobre outros organismos quando comparado ao milho convencional;
- A avaliação das características agronômicas e fenotípicas do milho MON 94804, usando as práticas de cultivo e manejo atuais, leva à conclusão de que não se espera que a liberação comercial do milho MON 94804 tenha efeito adverso nas práticas agronômicas utilizadas na cultura do milho.

Parecer:

Considerando que as normas da CTNBio estão baseadas em critérios técnicos internacionalmente aceitos, que a avaliação de biossegurança do milho MON 94804 conclui sobre sua similaridade à milho convencional quanto à biossegurança ao meio ambiente e à saúde humana e animal, a CTNBio deliberou pelo DEFERIMENTO.

Diante do exposto e considerando os critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco do milho geneticamente modificada é possível concluir que o evento MON 94804 no processo de liberação comercial é segura. Os dados apresentados na solicitação majoritária do milho MON 94804 atendem às normas e às legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal, e permitem concluir que o milho MON 94804 é substancialmente equivalente o milho convencional, sendo seu consumo seguro para a saúde humana e animal. No tocante ao meio ambiente, pode-se concluir que as subcombinações geneticamente modificadas não são potencialmente causadoras de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica à milho convencional.

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 âmbito das competências que lhe são atribuídas pelo art. 14 da Lei 11.105/05, Bem como o disposto na Resolução Normativa 32, a CTNBio considerou que o pedido atende às normas e as legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal, sendo que esta atividade não apresenta impactos significativos ao meio ambiente.

Monitoramento pós Liberação comercial:

A CTNBio não identificou risco não negligenciável, dessa forma a empresa está isenta do plano de monitoramento pós-liberação comercial, conforme determina o Art. 18, parágrafo primeiro da RN32 da CTNBio.

Data: 14/011/2023

(assinado eletronicamente)
Dr. Leandro Vieira Astarita
Presidente da CTNBio



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Vieira Astarita, Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança**, em 20/11/2023, às 16:23 (horário oficial de Brasília), com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.mcti.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador **11518829** e o código CRC **751AF9F3**.

Referência: Processo nº 01245.015143/2023-19

SEI-CTNBio - Membros nº 11518829