

Liberação comercial do milho geneticamente modificado MIR604 e do milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 com finalidade de cultivo, produção, manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo, liberação e descarte destes OGMs e seus derivados, bem como suas progênies.

Processo Número: 01200.004553/2012-90

Requerente: Syngenta Seeds Ltda.

Data de Protocolo: 09/11/2012

Próton: 46894/12

Assunto: Solicita parecer para a liberação comercial do milho geneticamente modificado MIR604 e do milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 com finalidade de cultivo, produção, manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo, liberação e descarte destes OGMs e seus derivados, bem como suas progênies.

Extrato Prévio: 3430/2012

Assessoria: Rubens José

Parecer Consolidado: Evanguedes Kalapothakis e Paulo Lee Ho

Decisão: Aprovado

FUNDAMENTAÇÃO TÉCNICA

O presente processo visa a autorização para liberação comercial do milho MIR604 (*Zea mays* ssp. *Mays*) e do milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 (*Zea mays* ssp. *Mays*), no que se refere ao seu cultivo, produção, manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo, liberação e descarte destes OGMs e seus derivados, bem como suas progênies.

O milho (*Zea mays* L. spp *Mays*) Bt11xMIR162xMIR604xGA21 foi desenvolvido por meio de melhoramento genético clássico, por cruzamento sexual entre linhagens geneticamente modificadas contendo os eventos Bt11, MIR162, GA21, aprovados para liberação comercial pela CTNBio, individualmente, e também em suas formas combinadas, Bt11xGA21 e Bt11xMIR162xGA21 (Processos 01200.002109/2000-04, 01200.007493/2007-08, 01200.000062/2006-21, Pareceres Técnicos 1255/2008 (BT11), 2042/2009 (Milho MIR 162) e 1597/2008 (Milho GA21). Processo 01200.000925/2009-11, Parecer Técnico 2040/2009 (Milho Bt11 x GA21). Processo 01200.005038/2009-21, Parecer Técnico 2722/2010 (Milho Bt11xMIR162XGA21)), e pelo evento MIR604, também objeto de avaliação para aprovação comercial neste processo. O objetivo de desenvolver o milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 é propiciar ao agricultor amplo espectro de controle das principais pragas-alvo da cultura do milho, como os lepidópteros: *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa zea*, *Ostrinia nubilalis*, *Agrotis ipsilon*, *Elasmopalpus lignosellus*, *Diatrea saccharalis* e o coleóptero-praga *Diabrotica speciosa* e ainda proporcionar maior flexibilidade no manejo de plantas daninhas.

O milho MIR604 encontra-se aprovado nos seguintes países: Austrália/Nova Zelândia (2006), Estados Unidos (2007), Canadá (2007), Taiwan (2007), Coreia (2007), México (2007), Japão (2007), Filipinas (2007), China (2008), Rússia (2008), União Europeia (2009), Indonésia (2001), Cazaquistão (2011), Colômbia (2012) e Argentina (2007).

O milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 encontra-se aprovado no Japão (2010), Coreia (2010), México (2010), Taiwan (2011), Argentina (2012) e Colômbia (2012), além de países como EUA, Canadá e Austrália e Nova Zelândia, cujas agências regulatórias não requerem dados adicionais para eventos combinados obtidos por melhoramento convencional, salvo em casos específicos.

A conclusão final desse parecer é que o milho piramidado Bt11xMIR162xMIR604xGA21 bem como o evento MIR604 não apresentam riscos significativos à saúde humana e animal. Essa conclusão foi baseada em uma leitura cuidadosa do Relatório Técnico enviado pela empresa Syngenta Seeds bem como

por uma busca de dados na literatura científica internacional que pudessem sugerir qualquer tipo de prejuízo à saúde animal, ao homem e meio ambiente decorrente do consumo e plantio dos milhos Bt11xMIR162xMIR604xGA21 e MIR604.

Descrição Técnica dos eventos Bt11, MIR162 e GA21

Bt11 possui o gene *cry1Ab* que confere resistência a certos insetos lepidópteros, e o gene *pat*, derivado do microrganismo do solo *Streptomyces viridochromogenes*, utilizado como marcador de seleção durante o processo de transformação. *cry1Ab* é altamente específica para alguns insetos lepidópteros (Hofte e Whiteley, 1989; Melin e Cozzi, 1990).

O milho MIR162 foi obtido a partir da inserção do gene *vip3Aa19* (denominado *vip3Aa20* no milho MIR162), que confere resistência a insetos lepidópteros, e do gene *pmi* (*manA*) que codifica a enzima Fosfomanose Isomerase (PMI), utilizado como marcador de seleção no processo de transformação obtido a partir de *Escherichia coli* cepa K-12.

O evento GA21 contém o gene *mepsps* que expressa a enzima Sintase 5-Enolpiruvil Shikimato-3-Fosfato (mEPSPS). As plantas de milho transformadas com o gene mutante *epsps* (*mepsps*), tais como as derivadas do evento GA21, sintetizam a proteína mEPSPS que confere tolerância aos produtos herbicidas contendo glifosato (SPENCER et al., 2000; LEBRUN et al., 1996).

Descrição técnica do milho MIR604

O milho MIR604 foi produzido por meio de transformação de embriões imaturos de milho, utilizando-se o vetor plasmidial pZM26. Detalhes da construção:

- . gene modificado *cry3A* (*mcry3A*) proveniente de *Bacillus thuringiensis* codifica a proteína inseticida mCry3A de 598 aminoácidos. Esse gene está sob regulação do promotor MTL de *Zea mays* e do terminador nopalina sintase (NOS) de *Agrobacterium tumefaciens*.

- . gene *pmi* (*manA*), que codifica a enzima Fosfomanose Isomerase (PMI), utilizada como marcador de seleção no processo de transformação. O gene *pmi* (*manA*) de *Escherichia coli* que codifica uma Fosfomanose Isomerase, está sob regulação do promotor do gene da ubiquitina de *Zea mays* e do terminador NOS de *A. tumefaciens*. PMI tem sido utilizado como um marcador de seleção durante o processo de transformação de diversas espécies (BOJSEN et al., 1994; JOERSBO et al., 1998; NEGROTTO et al., 2000).

A região T-DNA do plasmídeo pZM26 inclui um cassete de expressão do gene *mcry3A* de *B. thuringiensis subsp tenebrionis* e outro cassete de expressão do *pmi* (*manA*) de *E. coli* cepa K-12. Ambos foram inseridos no genoma do milho durante a transformação. O primeiro cassete de expressão consiste na sequência do gene *mcry3A*, uma versão modificada do gene *cry3A* de *Bacillus thuringiensis subsp tenebrionis*, sob a regulação do promotor do gene derivado de metalotioneína de *Zea mays*. O cassete utiliza a sequência terminadora de nopalina sintase de *Agrobacterium tumefaciens*, cuja função é fornecer o sítio de poliadenilação do RNAm do gene (DEPICKER et al., 1982). O segundo cassete de expressão consiste no gene *pmi* (*manA*) de *E. coli* cepa K-12 com o promotor do gene poliubiquitina de *Zea mays*, incluindo o primeiro intron (1010 pb). O promotor completo fornece expressão constitutiva em monocotiledôneas (CHRISTENSEN et al., 1992). Neste caso, também utilizou a sequência do terminador nopalina sintase de *Agrobacterium tumefaciens* como um sinal para poliadenilação. Outros detalhes sobre a construção gênica podem ser encontrados nos itens 3 sobre “Genes introduzidos, organismos de origem e suas funções específicas” 4 sobre “O vetor utilizado e seu espectro de hospedeiros”, 5 sobre “O mapa genético utilizado no processo de transformação (transgene/vetor), indicando as regiões que especificam função – promotores, elementos reguladores em cis, genes marcadores de seleção e origem de replicação” e no item 6 sobre “O resumo das construções para a obtenção do OGM” todos itens apresentados na proposta de liberação comercial para o milho MIR 604 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21 apresentada pela

Syngenta Seeds Ltda. Processo nº 01200.004553/2012-90. Detalhes sobre os elementos genéticos utilizados são também apresentados de forma didática na Tabela 2 desse documento.

Detalhes sobre o OGM – inserção no genoma da planta.

Sobre o evento combinado Bt11xMIR162xGA21, já aprovado para liberação comercial pela CTNBio, existe apenas uma cópia dos genes inseridos em seus respectivos eventos Individuais e ausência de qualquer sequência estrutural dos plasmídeos de transformação. As análises de sequência T-DNA presentes nos Eventos Bt11, MIR162, GA21 confirmaram que a inserção estava intacta e que a contiguidade dos elementos funcionais foi mantida. Detalhes sobre esse aspecto podem ser encontrados nos Processos 01200.002109/2000-04, 01200.007493/2007-08, 01200.000062/2006-21, Pareceres Técnicos 1255/2008 (BT11), 2042/2009 (Milho MIR 162) e 1597/2008 (Milho GA21). Processo 01200.000925/2009-11, Parecer Técnico 2040/2009 (Milho Bt11 x GA21). Processo 01200.005038/2009-21, Parecer Técnico 2722/2010 (Milho Bt11xMIR162XGA21).

Sobre o milho MIR604 dados das análises Southern Blot e sequenciamento do DNA do milho MIR604 demonstram que apenas uma cópia do gene *cry3A* modificado (*mcry3A*), do gene da fosfomanose isomerase *pmi* (*manA*), do promotor MTL e do promotor *ZmUbi1nt* foram introduzidos no genoma do milho. O DNA genômico foi isolado a partir de plantas da 6ª geração de retrocruzamento (BC6) do evento MIR604, método proposto por Thomas *et al.* (1993). Foi verificado que o milho MIR604 não contém qualquer sequência estrutural do plasmídeo de transformação pZM26. As análises de sequência de todo o T-DNA presente no evento MIR604 confirmaram que a inserção estava intacta e que a contiguidade dos elementos funcionais foi mantida. Uma truncagem de 43 pb na borda direita (RB) da junção da inserção T-DNA e uma truncagem de 44 pb na borda esquerda (LB) da junção da inserção T-DNA foram identificadas. Três mudanças de um só nucleotídeo também foram identificadas na inserção T-DNA. Uma dessas mudanças ocorreu dentro do promotor MTL. As duas outras mudanças ocorreram dentro da sequência codificadora de PMI, mas não levaram à alteração funcional aparente da proteína. Maiores detalhes sobre as análises moleculares do milho MIR604 e análise molecular comparativa do milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 podem ser encontradas nos itens 9.1 a 9.5 da proposta de liberação comercial para o milho MIR 604 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21 apresentada pela Syngenta Seeds Ltda. Processo nº 01200.004553/2012-90. O evento MIR604 está localizado no cromossomo um. No milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 não foram observadas quaisquer alterações na localização dos insertos, mantendo-se o evento MIR604 no cromossomo um (01), o evento Bt11 no cromossomo oito (08); o evento GA21 situado no cromossomo um (01) e o evento MIR162 no cromossomo cinco (05).

Estabilidade do OGM

O padrão de hibridação ao longo de três gerações de MIR604 (BC4, BC5 e BC6) foi idêntico, o que demonstra que a inserção do tDNA do pZM26 incorporado no MIR604 é estável ao longo de várias gerações. A análise estatística confirmou a proporção esperada da herança Mendeliana entre plantas positivas e negativas para uma característica hemizigótica nessas populações de 3:1 tanto para *mcry3A* como para *pmi* (*manA*). Esses resultados corroboram com os dados de caracterização molecular indicando a estabilidade da integração da inserção em um único sítio do genoma (veja detalhes no item 12 sobre “O padrão de herança genética dos genes inseridos, apresentados” na proposta de liberação comercial para o milho MIR 604 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21 apresentada pela Syngenta Seeds Ltda. Processo nº 01200.004553/2012-90).

Níveis de expressão das proteínas mCry3A e PMI no milho MIR604

As concentrações de mCry3A e PMI foram determinadas por ELISA em vários tecidos vegetais e na planta inteira em quatro estágios de crescimento do milho MIR604 e no isogênico convencional, com mesmo background genético. Concentrações mensuráveis da proteína mCry3A foram detectadas em todos os tecidos analisados provenientes dos híbridos de milho MIR604, exceto pólen. Os teores médios

de proteína de mCry3A em folhas, ao longo dos quatro estádios de desenvolvimento, variaram de 1,07 a 21,50 µg/g em peso fresco (1,19 a 32,11 µg/g em peso seco). Em raízes, a concentração de mCry3A variou de 0,45 a 1,19 µg/g em peso fresco (4,21 a 8,12 µg/g em peso seco). Em plantas inteiras, a concentração de mCry3A variou de 0,98 a 3,38 µg/g em peso fresco (5,61 a 9,98 µg/g em peso seco). Em grãos, a concentração de mCry3A variou de 0,07 a 0,17 µg/g em peso fresco (0,08 a 0,24 µg/g em peso seco). As concentrações de PMI foram determinadas tanto com base no peso seco como no peso fresco de cada tecido. Os teores médios de proteína PMI, durante todo o ciclo da cultura, em folhas variou de 0,89 a 1,97 µg/g de peso fresco (2,13 a 5,18 µg/g de peso seco). Em raízes, a concentração de PMI variou de 0,10 a 0,15 µg/g de peso fresco (0,63 a 1,08 µg/g de peso seco). Em plantas inteiras, a concentração de PMI variou de 0,46 a 0,75 µg/g de peso fresco (1,60 a 4,60 µg/g de peso seco). Em grãos, a concentração de PMI variou de 1,25 a 1,5 µg/g de peso fresco (1,78 a 1,79 µg/g de peso seco). Em pólen a concentração de PMI medida foi 13,50 µg/g de peso fresco (16,69 µg/g de peso seco). Detalhes são apresentados nas tabelas 4, 5, 6 e 7 da proposta de liberação comercial para o milho MIR 604 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21 apresentada pela Syngenta Seeds Ltda. Processo nº 01200.004553/2012-90.

Para a maioria dos tecidos analisados nas diferentes fases de desenvolvimento, não houve diferença estatisticamente significativa entre a expressão de cada uma das proteínas expressas no milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 e no milho contendo os eventos isoladamente. Embora estejam presentes três eventos para a característica de resistência a insetos no milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21, não era esperada qualquer interação ou efeito aditivo na expressão destas proteínas, visto que as proteínas Cry1Ab, Vip3Aa20 e mCry3A são expressas por genes independentes, como já demonstrado pela análise de segregação genética e por apresentarem modos de ação distintos. Proteínas transgênicas analisadas: Bt11 Cry1Ab, PAT; MIR162 Vip3Aa20, PMI; MIR604 mCry3A, PMI; GA21 mEPSPS; Bt11xMIR162xMIR604xGA21 Cry1Ab, PAT, Vip3Aa20, mCry3A, PMI e mEPSPS Milho não transgênico Cry1Ab, PAT, Vip3Aa20, mCry3A, PMI, mEPSPS (veja detalhes nos itens 10.2.1,2,3, 4, 5, e 6 da proposta de liberação comercial para o milho MIR 604 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21 apresentada pela Syngenta Seeds Ltda. Processo nº 01200.004553/2012-90).

Estudos de toxicidade

A segurança na dieta das proteínas mCry3A e PMI presentes no milho MIR604 foi avaliada em estudo de toxicidade oral com ratos. Os ratos receberam uma dose única de 2.377 mg/kg de peso corporal para a proteína mCry3A e 2.072 mg/kg de peso corporal da proteína PMI e foram observados durante duas semanas. Não foram observados efeitos prejudiciais nos animais teste. Testes foram também realizados em aves. Os parâmetros avaliados foram peso corporal, consumo de alimento e observações clínicas. Sob as condições do referido estudo, a DL50 oral aguda das proteínas mCry3A e PMI em ratos só poderia ser estimada utilizando-se quantidades superiores, ou seja maior do que 2.377 mg/kg de peso corporal para mCry3A e maior do que 2.072mg/kg de peso corporal para PMI. Em grãos, a concentração de mCry3A variou de 0,07 a 0,17 µg/g em peso fresco (0,08 a 0,24 µg/g em peso seco) e a concentração de PMI variou de 1,25 a 1,5 µg/g de peso fresco (1,78 a 1,79 µg/g de peso seco).

Da mesma forma, não é esperado qualquer efeito adverso aos animais quando alimentados com o milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21, uma vez que as proteínas são expressas no mesmo nível que nos eventos individuais que o compõe e o perfil composicional do milho combinado não difere do milho convencional.

Os testes de digestibilidade in vitro das proteínas mCry3A e PMI mostraram que elas são prontamente digeridas em fluidos digestivos simulados. As proteínas expressas em plantas geneticamente modificadas tem uma biodisponibilidade oral desprezível, não sendo absorvidas intactas no trato gastrointestinal (HAMMOND; COCKBURN, 2008).

As proteínas mCry3A e PMI do evento MIR604 não apresentaram identidade significativa com nenhuma proteína identificada como, ou conhecida por ser, toxina (exceto para as proteínas inseticidas

cristalinas Cry de *Bacillus thuringiensis*) ou alérgenos de proteínas conhecidas. A proteína mCry3A foi inicialmente isolada a partir de *Bacillus thuringiensis subsp. tenebrionis* (SEKAR *et al.*, 1987). Esta bactéria não tem histórico de envolvimento com processos alérgicos (TAYLOR; HEFLE, 2001; FAO/WHO, 2001).

Quanto ao milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21, deve ser considerado que a expressão de cada uma das proteínas expressas neste milho combinado não diferem daquela nos milhos contendo os eventos isoladamente. Dessa forma, as avaliações toxicológicas e farmacológicas realizadas para os eventos individuais Bt11, MIR162 e GA21, apresentadas nos seus respectivos processos de liberação comercial, e avaliações do milho MIR604 descritos neste Processo, podem ser consideradas para o milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21.

Estudos nutricionais

A composição de grãos e forragem de plantas derivadas do evento transgênico Bt11xMIR162xMIR604xGA21 e seu controle não-transgênico foi avaliada com base nos dados provenientes de 02 locais diferentes do Brasil. Os valores para cada analito, escolhidos com base na literatura internacional, foram utilizados para avaliar se a composição do milho teste e seu controle são biologicamente significativos.

A fim de demonstrar a equivalência substancial entre o milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 e o milho convencional, foram conduzidas análises em diversos grupos de componentes: composicional (forragem e grãos), perfil de minerais, perfil de ácidos graxos e perfil de aminoácidos, sendo estes três últimos grupos realizados apenas para grãos. Os componentes foram selecionados com base em recomendações da OECD (OECD, 2002).

Forragem: Características composicionais

- umidade, cinza, gordura, proteína, carboidratos, fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN) cálcio e fósforo.

- Grãos: Componentes composicionais - umidade, cinza, gordura, proteína, carboidratos, fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), fibra alimentar e amido. Análise de minerais - cobre, cálcio, ferro, fósforo, magnésio, manganês, potássio, sódio e zinco. Análise de ácidos graxos - ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oléico, ácido linoléico, ácido linólico, ácido araquídico e ácido behênico. Análise da composição de aminoácidos - ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina, arginina, cisteína, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, prolina, serina, tirosina, treonina, triptofano e valina. Metabólitos secundários: ácido ferrúlico, ácido cumárico, ácido fítico e inibidor de tripsina. Análise de vitaminas - vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B6, ácido fólico, beta carotenol e alfa tocoferol.

Com base nos resultados apresentados, pode-se concluir que os componentes centesimais de forragem e grãos do milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21 em amostras colhidas no Brasil, na safra 2011/12, foram equivalentes ao milho convencional. Houve, entretanto redução na porcentagem do ácido fólico (vitamina B9 ou vitamina M) e do alfa tocoferol (vitamina lipossolúvel da família da vitamina E). Detalhes são apresentados na proposta de liberação comercial para o milho MIR 604 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21 apresentada pela Syngenta Seeds Ltda. Processo nº 01200.004553/2012-90, PARTE IV – AVALIAÇÃO DE RISCO À SAÚDE HUMANA E ANIMAL, item 3 e nas Tabelas 23 e 24.

Proteínas alergênicas

As proteínas mCry3A e PMI foram avaliadas para alergenicidade, examinando a sua digestibilidade, perfil de glicosilação, estabilidade térmica e homologia de sequência de aminoácidos de alérgenos

conhecidos. Nenhuma homologia significativa foi encontrada entre as novas proteínas e alérgenos de proteínas conhecidas.

Efeito da ingestão do milho MIR604 em mamíferos e aves.

Estudo de alimentação em ratos com ração contendo milho MIR604, foram realizados por um período de 90 dias consecutivos. Grupos de doze machos e doze fêmeas de ratos foram alimentados com dietas que continham grãos de milho MIR604 a 10,0% ou 41,5% p/p, assim como um grupo controle alimentado com ração com as mesmas proporções de milho não geneticamente modificado. O nível baixo (10,0% p/p) representando o equivalente ao consumo dietético humano de milho (3g/kg/dia). O nível mais alto (41,5% p/p) foi selecionado como a dose máxima possível que não resultasse em desequilíbrio nutricional nos animais. Controles não OGM foram utilizados.

Estudos em frangos de corte foram realizados com ração preparada com o milho MIR604 e a com versão correspondente não transgênica – isolinha (MIR604 Negativo) do mesmo híbrido, juntamente com um lote de milho cultivado comercialmente (híbrido comercial). Os itens de desempenho medidos neste estudo incluíram efeitos na sobrevivência, peso corporal, eficiência alimentar e produção de carcaça. Um total de 900 aves foram utilizadas.

Com base nos resultados expostos, nenhuma alteração no desempenho ou variação fisiológica e/ou morfológica foi verificada nos animais testados quando alimentados com o milho MIR604. Da mesma forma, não é esperado qualquer efeito adverso aos animais quando alimentados com o milho Bt11xMIR162xMIR604xGA21, uma vez que as proteínas são expressas no mesmo nível que nos eventos individuais que o compõe e o perfil composicional do milho combinado não difere do milho convencional. Detalhes são apresentados na proposta de liberação comercial para o milho MIR 604 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21 apresentada pela Syngenta Seeds Ltda. Processo nº 01200.004553/2012-90 nos itens 4.1 e 4.2.

A estabilidade à digestão e ao processamento industrial da proteína especificada pelo transgene com base nas propriedades físico-químicas.

Os resultados indicam que as proteínas mCry3A são estáveis por pelo menos 30 minutos a temperaturas até e incluindo 25°C, mas são instáveis a partir de 37°C, como medido pela perda de imunorreatividade. A exposição das proteínas mCry3A a 95°C, por 30 minutos, resultou em perda completa da imunorreatividade, como medida por ELISA. Esses resultados sugerem uma desnaturação da proteína e conseqüentemente perda de função.

Conclusões sobre o potencial de toxicidade das proteínas mCry3A e PMI

A ausência de toxicidade aguda observada nos roedores expostos a doses orais elevadas da proteína mCry3A indica que qualquer resíduo desta proteína em plantas de MIR604 que venha a ser utilizadas na alimentação humana ou animal não representam uma preocupação de segurança (veja detalhes na proposta de liberação comercial para o milho MIR 604 e Bt11xMIR162xMIR604xGA21 apresentada pela Syngenta Seeds Ltda. Processo nº 01200.004553/2012-90, item 9.1.3 Parte IV). A análise das sequências de mCry3A e PMI em bancos de dados (NCBI) mostrou que não há nenhuma identidade significativa a qualquer proteína identificada como, ou conhecida por ser, toxina (exceto para as proteínas inseticidas cristalinas Cry de *B. thuringiensis*). A ausência de toxicidade das proteínas introduzidas no evento milho MIR604 sustenta a sua segurança para alimentação humana e animal.

Resultados experimentais sobre a redução de contaminação por micotoxinas em plantas OGM expressando peptídeos inseticidas deve também ser considerados como fator positivo para liberação comercial dos milhos Bt11xMIR162xMIR604xGA21 e MIR604 (Hammond *et al.*, 2004; Dowd 2001 e Abbas *et al.*, 2008).

Avaliação de risco ao meio ambiente

Os possíveis efeitos em organismos indicadores relevantes (simbiontes, predadores, polinizadores, parasitas ou competidores do OGM) nos ecossistemas onde se pretende efetuar o cultivo dos OGMs em comparação com o organismo parental do OGM em sistema de produção convencional foram avaliados. Os resultados obtidos mostram que não esperados efeitos relevantes em organismos indicadores nos ecossistemas de cultivo comercial de milho.

Foi também realizado um estudo para avaliar a capacidade de dispersão das estruturas de propagação e reprodução dos OGMs além das áreas de cultivo e os mecanismos de sua dispersão no ar, água, e no solo, fornecendo informações sobre a viabilidade do pólen da planta e indicando os agentes polinizadores e sua distribuição geográfica no Brasil. Sabe-se que a polinização do milho ocorre através do vento, embora as abelhas visitem as flores masculinas do milho. Apesar de improvável que o pólen coletado pelas abelhas seja utilizado na polinização cruzada, uma vez que as flores femininas se encontram separadas das flores masculinas e não produzem néctar, não sendo atraentes para as abelhas, as abelhas foram testadas como organismo não alvo. Os resultados mostram que a proteína mCry3A pelo evento não tem potencial para produzir efeitos adversos nos níveis de exposição no campo sobre espécies terrestres representativas de invertebrados benéficos, inclusive de abelhas. Além disso, vale salientar que a CTNBio definiu normas rígidas que exigem isolamento de 100 m, ou 20 metros contendo 10 fileiras de milho não OGM, que impedem a dispersão do pólen do milho OGM, suportadas por evidências científicas.

PARECER FINAL

Tendo em vista que:

- 1- Os relatórios técnicos apresentados pela proponente evidenciam a segurança do evento testado;
- 2- As proteínas expressas não apresentam similaridades com outras proteínas alergênicas conhecidas, são desnaturadas a temperatura de 95°C e rapidamente destruídas em suco gástrico;
- 3- As proteínas expressas não apresentam similaridades em banco de dados com outras proteínas tóxicas;
- 4- Não foram detectadas alterações morfológicas e fisiológicas em animais utilizados em testes *in vivo*;
- 5- A expressão do gene cry3A não altera a expressão dos demais genes previamente inseridos no evento dos milhos Bt11xMIR162xMIR604xGA21, cuja segurança já fora avaliada e aprovada pela CTNBio;

Conclusão: tendo em vista os dados apresentados pela proponente, as informações disponíveis na literatura científica e os pareceres apresentados pelos relatores da Sub-Comissão Setorial Permanente de Saúde Humana e Animal, sou de parecer que esta variedade de milho é tão segura quanto seu equivalente não geneticamente modificado.

Data: 20/06/2013.

Dr. Evanguedes Kalapothakis
Relator - Membro da CTNBio

Dr. Paulo Lee Ho
Relator - Membro da CTNBio