

## PARECER TÉCNICO Nº 1597/2008

**Processo nº:** 01200.000062/2006-21

**Requerente:** Syngenta Seeds Ltda.

**CNPJ:** 049.156.326/0001-00

**Endereço:** Av. das Nações Unidas 1801 - 4º andar – São Paulo – SP – CEP 04795-900

**Assunto:** Liberação Comercial de Milho Geneticamente Modificado

**Extrato Prévio:** 421/2006, publicado em 21/02/2006

**Reunião:** 116ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 18 de setembro de 2008

**Decisão:** DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação do pedido de Parecer Técnico para liberação comercial de milho geneticamente modificado tolerante ao glifosato (Milho GA21, Evento GA21), bem como de todas as progênies provenientes do evento de transformação GA21 e suas derivadas de cruzamento de linhagens e populações não transgênicas de milho com linhagens portadoras do evento GA21, concluiu pelo seu DEFERIMENTO nos termos deste parecer técnico conclusivo.

A Syngenta Seeds Ltda. solicitou à CTNBio Parecer Técnico para o livre registro, uso, ensaios, testes, semeadura, transporte, armazenamento, comercialização, consumo, importação, liberação e descarte de milho (*Zea mays*, L.) tolerante ao herbicida glifosato. O evento GA21 foi produzido via bombardeamento com microprojéteis de uma suspensão de células de cultura, utilizando-se o plasmídeo pDPG434, derivado do vetor pSK, o qual é comumente usado em biologia molecular e é derivado do pUC19. Os elementos destinados a inserção do gene de interesse estão contidos dentro do fragmento de restrição *NotI*, contendo o cassete de expressão usado para a geração do evento GA21. O milho GA21 contém o gene da actina 1 de arroz, que age como promotor; o gene *mepsps* (modificado do gene *epsps* de milho), que codifica a proteína mEPSPS e confere tolerância ao herbicida glifosato; o gene *nos*, responsável pela terminação da transcrição; e sequências OTP, responsáveis por dirigir a proteína mEPSPS ao cloroplasto. A construção gênica utilizada para inserir o gene *mepsps* em milho resultou na inserção estável de uma cópia funcional desse gene, a qual proporcionou tolerância das plantas ao herbicida glifosato. A sequência de aminoácidos da enzima mEPSPS expressa no milho GA21 é 99,3% idêntica à sequência da enzima endógena do milho convencional, que é expressa em uma concentração significativamente mais baixa do que a proteína mEPSPS do evento GA21. Concentrações quantificáveis da proteína mEPSPS foram detectadas na maior parte dos tecidos de plantas derivadas do evento GA21. Nenhuma das sequências introduzidas no evento GA21 ou de seus doadores são conhecidas como patogênicas para os seres humanos ou animais. As proteínas EPSPS são ubíquas na natureza e estão naturalmente presentes

em alimentos derivados de fontes vegetais e microbianas presentes na dieta normal de humanos e animais. Foram realizadas análises bromatológicas e quantificação de diversos componentes nutricionais do grão de milho. Tais análises indicaram que os níveis de componentes mensurados não haviam mudado além da variação natural no milho. Nenhum padrão consistente emergiu que sugerisse que mudanças biologicamente significativas na composição ou valor nutritivo do grão ou forragem ocorreram em consequência da transformação ou expressão do transgene *mepsps*. A análise de aminoácidos inserida na enzima mEPSPS não apresenta homologia com proteínas tóxicas para mamíferos e não se julga que apresente potencial tóxico para humanos. A ausência de toxicidade também foi comprovada com estudos em animais empregando-se altas doses de proteína purificada. A enzima mEPSPS expressa no milho com evento GA21 não possui características típicas de alérgenos conhecidos. Não há regiões de homologia quando a sequência introduzida é comparada com sequências de alérgenos conhecidos. Os dados apresentados indicaram uma probabilidade extremamente baixa desta proteína intacta ser absorvida através da mucosa intestinal durante o consumo e estabelecer afinidade imunoquímica por anticorpos, incluindo os anticorpos IgE, primariamente responsáveis pelas reações alérgicas. Além disso, a enzima mEPSPS é rapidamente degradada por hidrólise ácida e enzimática quando exposta a fluidos que se assemelham aos fluidos gástricos ou intestinais. De acordo com os dados sobre equivalência nutricional e composicional do milho GA21 em relação a sua versão isogênica convencional, nenhum metabólito do milho GA21 tem potencial para se concentrar na cadeia alimentar, além daquele já esperado para o milho convencional amplamente cultivado. No Brasil, não existem espécies aparentadas do milho em distribuição natural. Contudo, o fluxo gênico para variedades locais de polinização aberta é possível, mas apresenta o mesmo risco causado pelos genótipos comerciais disponíveis no mercado. É possível a coexistência entre cultivares de milho convencional (melhoradas ou crioulas) e transgênico, do ponto de vista agrônomo. A possibilidade da planta transgênica se tornar uma espécie daninha, bem como o cruzamento do milho GA21 com outras plantas de milho, originar uma planta daninha é desprezível, em virtude das características biológicas da espécie e ao fato de que o milho não sobrevive bem sem a intervenção humana. Assim, espera-se que o milho GA21 tenha um comportamento ambiental semelhante ao milho comum. A possibilidade do gene *mepsps* da planta transgênica passar para outros organismos é praticamente nula. O gene *epsps* é comum a plantas, fungos e microrganismos, ocorre abundantemente na natureza, não resultando em risco significativo para a microbiota do solo. Adicionalmente, não há evidências de que genes de plantas tenham sido alguma vez transferidos a bactérias nas condições naturais. O glifosato está registrado no Brasil no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, no Ministério do Meio Ambiente – MMA e possui monografia aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. O uso do herbicida glifosato em lavouras de milho GA21 deve observar normas pertinentes, como por exemplo, a Lei 7.802, de 11 de julho de 1989 (Lei de Agrotóxicos). A CTNBio concluiu que o cultivo e o consumo do milho GA21

não são potencialmente causadores de significativa degradação do meio ambiente ou de riscos à saúde humana e animal. Por essas razões, não há restrições ao uso deste milho ou seus derivados, exceto nos locais contemplados pela Lei 11.460, de 21 de março de 2007. A coexistência entre cultivares de milhos convencionais (melhoradas ou crioulas) e cultivares transgênicas de milhos é possível do ponto de vista agrônomo e deve seguir o disposto na Resolução Normativa nº 4 da CTNBio. A requerente deverá conduzir monitoramento pós-liberação comercial nos termos da Resolução Normativa nº 3 da CTNBio e terá o prazo de 30 (trinta dias) a partir da publicação deste Parecer Técnico, para adequar sua proposta de plano de monitoramento pós-liberação comercial, conforme o Anexo I da Resolução Normativa nº 5, de 12 de março de 2008. No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que o pedido atende às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, da agricultura e da saúde humana e animal.

### **PARECER TÉCNICO DA CTNBio**

#### **I. Identificação do OGM**

Designação do OGM: Milho GA21, Evento GA21

Requerente: Syngenta Seeds Ltda.

Espécie: *Zea mays* - Milho

Característica Inserida: Tolerância ao herbicida glifosato

Método de introdução da característica: bombardeamento de partículas (biobalística)

Uso proposto: produção de silagem e grãos para consumo humano e animal do OGM e seus derivados.

#### **II. Informações Gerais**

*Zea mays* L., o milho, é uma espécie pertencente à tribo Maydae, que está incluída na sub-família Panicoideae, família Graminea (Poacea). Os gêneros pertencentes à tribo Maydae incluem o *Zea* e o *Tripsacum* no Hemisfério Ocidental. O milho é uma espécie separada dentro do sub-gênero *Zea*, com número cromossômico  $2n = 20,21,22,24$  <sup>(16)</sup>.

O milho é um cereal essencialmente americano, continente onde se encontram os parentes selvagens mais próximos teosinte e *Tripsacum* <sup>(31)</sup>. Presume-se que a região específica de sua origem seja o México e que tenha se originado do teosinte, *Z. mays mexicana* (Schrader) Itis, há mais de 8.000 anos. O teosinte é encontrado no México e em alguns locais da América Central, onde pode cruzar com o milho cultivado em campos de produção. O milho cultivado pode ser também cruzado com o gênero mais distante *Tripsacum*. Esse cruzamento ocorre com grande dificuldade e resulta em progênie macho-estéril.

O milho é uma planta anual, alta e robusta. É uma das plantas mais eficientes na conversão de energia solar em alimento e é a matéria-prima de diversos produtos, sendo uma das mais importantes fontes de alimento no mundo. Ao longo desses 8.000 anos, o milho cultivado ganhou várias características agronômicas de valor, mas perdeu a habilidade de sobreviver na natureza.

De todas as plantas cultivadas, provavelmente é a que possui a maior variabilidade genética. Existem, hoje, identificadas cerca de 300 raças de milho e, dentro de cada raça, milhares de cultivares. O milho é, hoje, a espécie cultivada que atingiu o mais elevado grau de domesticação e só sobrevive na natureza quando cultivado pelo homem <sup>(6)</sup>. Normalmente, a manutenção dessa variabilidade genética tem sido feita através de armazenamento individualizado, em bancos de germoplasma, em condições controladas de umidade e temperatura. No Brasil e no mundo existem vários bancos de germoplasmas. A Embrapa possui dois bancos de germoplasma, um na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília-DF, e outro na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas – MG. O milho é cultivado comercialmente em mais de 100 países, com uma produção total estimada em 705 milhões de toneladas por ano.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho com uma produção de aproximadamente 35 milhões de toneladas no ano de 2005, atrás somente dos Estados Unidos da América (282 milhões de toneladas) e da China (139 milhões de toneladas) <sup>(18)</sup>. No Brasil, o milho é plantado basicamente em duas safras (plantio de verão e safrinha) e é cultivado em praticamente todo o território nacional, sendo que 92% da produção se concentra nas regiões Sul (47% da produção), Sudeste (21% da produção) e Centro Oeste (24% da produção) <sup>(9)</sup>.

As plantas daninhas estão entre os principais problemas da cultura do milho no Brasil. Há algumas alternativas de controle e a mais utilizada é o emprego de herbicidas. O Brasil é o terceiro maior consumidor de defensivos agrícolas do mundo. Possuímos, atualmente, mais de 140 agrotóxicos registrados para milho e o uso de defensivos agrícolas é um dos fatores que mais afeta a saúde dos agricultores no Brasil, sendo responsável pela intoxicação de um milhão de pessoas anualmente <sup>(2)</sup>. Nesse cenário, o uso de cultivares de milho contendo o evento GA21 seria mais uma alternativa.

O desenvolvimento do milho GA21 representa uma opção para o controle de plantas daninhas que competem negativamente com a produção de milho. Foi obtido pela transformação de cultura de células de linhagem de milho pelo método do bombardeamento com microprojétil (biobalística) e expressa uma proteína sintase duplo mutante 5-enolpiruvil shikimate-3-fosfato de milho (mEPSPS), que confere tolerância ao herbicida glifosato. O milho GA21 está liberado comercialmente para cultivo na Argentina (1998), Canadá (1998), Japão (1998) e Estados Unidos (1997). É utilizado na alimentação humana e animal na Austrália (2000), Canadá (1998), União Européia (2005), Japão

(1999), Coréia (desde 2002), China (2004), Argentina (2005), México (2002), Filipinas (2003), África do Sul (2002), Taiwan (2003) e Estados Unidos (1996) <sup>(1)</sup>.

### III. Descrição do OGM e Proteínas Expressas

Plantas de milho do evento GA21 expressam a proteína sintase 5-enol piruvilshikimate-3-fosfato do milho duplo mutante (mEPSPS). Essa enzima pertence à via metabólica do ácido shiquímico, envolvido na biossíntese de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano e tirosina), existente em plantas, fungos e bactérias, mas ausente nos animais (Figura 1).

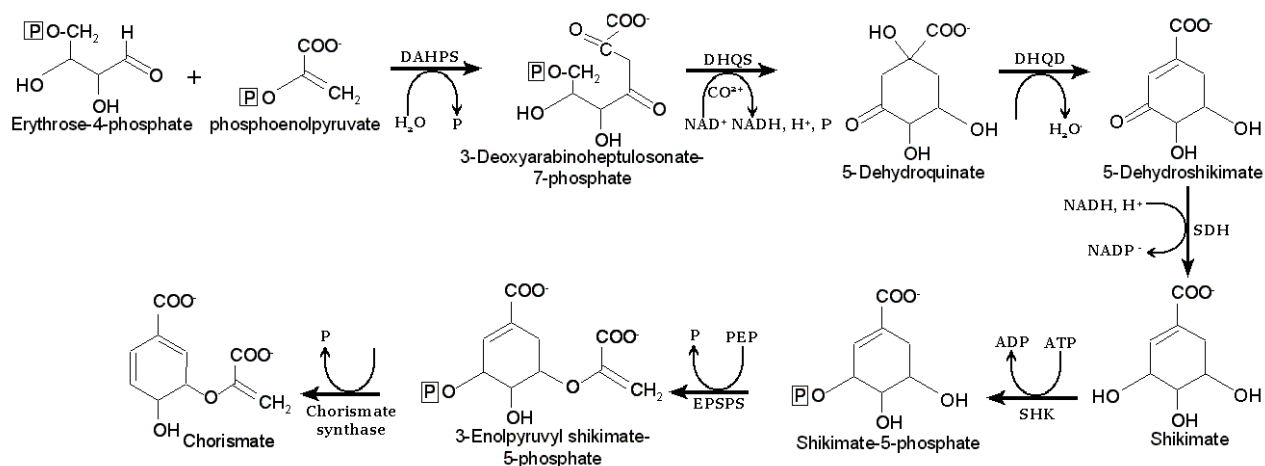


Figura 1 – Via do ácido shiquímico. Fonte: [http://www.biocristalografia.df.ibilce.unesp.br/pesquisa/shikimate\\_pathway2.php](http://www.biocristalografia.df.ibilce.unesp.br/pesquisa/shikimate_pathway2.php)

O evento GA21 foi produzido via bombardeamento com microprojéteis de uma suspensão de células de cultura <sup>(23)</sup>, utilizando-se o plasmídeo pDPG434, derivado do vetor pSK, o qual é comumente usado em biologia molecular e é derivado do pUC19. Os elementos destinados a inserção do gene de interesse estão contidos dentro do fragmento de restrição *NotI*, contendo o cassete de expressão usado para a geração do evento GA21:

- Actina 1: região 5' do gene actina 1 do arroz (*Oryza sativa*) contendo o promotor, o primeiro exon e o primeiro íntron <sup>(27)</sup>;
- OTP: sequências N-terminais do peptídeo de trânsito de cloroplasto (CTP) baseado nas sequências CTP de girassol (*Helianthus annuus*) e milho (*Z. mays*), presentes para dirigir a proteína mEPSPS ao cloroplasto <sup>(24)</sup>;
- mepsps*: sequência que codifica a proteína modificada de milho (*Z. mays*) mEPSPS, que confere tolerância ao glifosato <sup>(25)</sup>;

d) *nos* – região não traduzida 3' do gene da nopalina sintase de *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA, o qual termina a transcrição e dirige a poliadenilação do mRNA <sup>(10)</sup>.

Genes *epsps* são ubíquos na natureza. O gene mutante *epsps* (*mepsps*) é resultante de duas mudanças no gene *epsps* de milho e foram introduzidas para alterar especificamente dois aminoácidos na proteína *epsps* selvagem. As mutações encontram-se na posição do aminoácido 102 (de treonina para isoleucina) e 106 (de prolina para serina). Plantas de milho transformadas com o gene *mepsps* sintetizam a proteína mEPSPS, que confere tolerância aos produtos herbicidas contendo glifosato.

O resultado obtido no teste do Qui Quadrado ( $X^2 > 3,84$  para todas as gerações) aceita a hipótese de que a característica de tolerância ao glifosato se comporta de maneira mendeliana e segrega na proporção 1:1. O número de loci transgênicos da inserção do evento GA21 foi analisado por Southern blot, usando digestão com *EcoRV* e hibridação com duas sondas geradas por PCR que representam os elementos funcionais contidos no fragmento de transformação *NotI* de pDPG434. A análise mostrou que toda inserção GA21 é em um único locus e está contida em uma banda de hibridação de 20,5 kb. Dados de hibridação da análise de Southern blot de três gerações do evento GA21 demonstraram que a inserção deste evento é herdada de modo estável em todas as gerações de plantas derivadas deste evento.

A sequência de aminoácidos da enzima mEPSPS expressa no Milho GA21 é 99,3% idêntica à sequência da enzima endógena do milho convencional. A proteína endógena EPSPS é expressa em uma concentração significativamente mais baixa do que a proteína mEPSPS do evento GA21. Concentrações quantificáveis da proteína mEPSPS foram detectadas na maior parte dos tecidos de plantas derivadas do evento GA21. Em todos os estágios de crescimento dos híbridos do evento GA21, as concentrações médias de mEPSPS medidas nas folhas variaram de aproximadamente 0,2 µg/g de peso fresco a 15 µg/g de peso fresco (< 0,3 a 7,0 µg/g de peso seco); nas raízes, variaram de aproximadamente 2 a 7 µg/g de peso fresco (< 14 a 44 µg/g de peso seco); e na planta inteira, variaram de aproximadamente 3 a 10 µg/g de peso fresco (8 a 68 µg/g de peso seco). As concentrações médias medidas nos grãos na maturação da semente e na senescência variaram de aproximadamente 4 a 7 µg/g de peso fresco (5 a 10 µg/g de peso seco). A concentração da proteína mEPSPS no pólen seco ao ar durante a noite teve média de aproximadamente 168 µg/g de peso fresco nos dois híbridos do evento GA21. As concentrações de mEPSPS nas amostras de chips e óleo de milho estavam abaixo do limite de detecção.

#### IV. Aspectos relacionados à Saúde Humana e dos Animais

O esquema proposto para a estimativa de risco de alimentos completos, convencionais ou geneticamente modificados, difere daquele classicamente feito para produtos bem caracterizados quimicamente, com pureza definida, sem valor nutricional relevante e cuja exposição humana ocorre

em baixas doses, como os aditivos alimentares, fármacos, cosméticos e substâncias químicas de uso industrial. Os alimentos completos, no entanto, são misturas químicas complexas, cada um deles sujeito a variação temporal em sua composição e valor nutricional, o que limita seu uso em ensaios toxicológicos com animais de experimentação, tais como estão validados. As dificuldades de executar testes toxicológicos tradicionais com alimentos completos, inclusive com OGM, levaram a uma proposta alternativa para avaliação de sua segurança alimentar baseada na análise comparativa entre determinado produto e outro similar, com histórico aceitável de consumo seguro. A elaboração desta abordagem coincide com o conceito de *equivalência substancial*, considerado o modo mais prático de tratar a segurança de alimentos e de componentes alimentares produzidos pela biotecnologia. Esta abordagem, formulada pela FAO/WHO ao longo da década de 1990, foi adotada por instituições de referência como a OECD <sup>(30)</sup>, o Codex Alimentarius <sup>(17)</sup>, a FDA norte-americana <sup>(43)</sup>, a European Food Safety Agency <sup>(12)</sup>, além da Sociedade de Toxicologia norte-americana <sup>(33)</sup>.

Na abordagem por *equivalência substancial*, o OGM é comparado ao seu similar natural mais próximo para identificar diferenças intencionais e não-intencionais, levando em consideração: identidade, fonte, processo de transformação, composição, efeitos do processamento, características do ADN recombinante (estabilidade de inserção, potencial para transferência gênica), potenciais tóxico, alergênico e outros da proteína expressa pelo transgene, e possíveis efeitos secundários da expressão do novo gene (interrupção de vias metabólicas, interferência com macro e micronutrientes etc). A verificação da *equivalência substancial* é uma etapa importante, mas não deve ser confundida com a avaliação do risco alimentar propriamente dito. Se existir qualquer possibilidade de perigo, seja tóxico ou nutricional, a avaliação deve prosseguir na tentativa de esclarecimento de sua natureza e gravidade, o que inclui a possível realização de testes toxicológicos *in vivo*. A necessidade desses testes para a avaliação da segurança de OGM ou de seus produtos deve ser decidida caso-a-caso. Particularmente para o caso de novas proteínas, os testes devem ser indicados quando: (1) não existe histórico circunstanciado de consumo seguro prévio do OGM e de seus produtos, pelo homem e por animais de criação; (2) as informações disponíveis sobre sua segurança são consideradas insuficientes; (3) sua caracterização bioquímica e funcional for considerada insuficiente: peso molecular, sequência de aminoácidos, homologia com proteínas que causam efeitos adversos, enzimas subsidiárias, substratos específicos, estabilidade durante processamento, armazenamento, resistência à digestão, produtos de quebra, entre outros; (4) existe a possibilidade da nova proteína interferir em vias metabólicas e funcionais ou estruturas relevantes; (5) existe a possibilidade da transgenia provocar modificações genéticas inadvertidas na planta transgênica (silenciamento ou superexpressão de genes endógenos); (6) os resultados obtidos pela análise da *equivalência substancial* indicarem quaisquer dissimilaridades com o produto convencional ao qual aquele OGM foi comparado.

Naturalmente, a realização de ensaios de toxicidade de OGM com animais de experimentação (exposição repetida, 28 ou 90 dias) implica estratégias próprias para adequar o fornecimento do material-teste aos animais (forma de apresentação, níveis de dose, etc). Quando o produto da transgenia é uma proteína modificada, ela pode ser isolada do próprio OGM ou sintetizada por microorganismos e oferecida aos animais-teste nesta forma isolada. No último caso, deve haver garantia de que a proteína isolada corresponde bioquímica e funcionalmente à proteína produto do transgene. Em situações muito particulares, o teste poderá ser feito com o alimento completo que, então, deverá ser fornecido da mesma forma e pelo menos na quantidade em que é consumido pelo homem.

A avaliação de segurança de alimentos derivados de matérias-primas geneticamente modificadas é baseada na análise de risco, metodologia científica que compreende as etapas de avaliação, gerenciamento e comunicação de risco. Na etapa de avaliação de risco é buscada a caracterização qualitativa e quantitativa dos potenciais efeitos adversos, tendo como balizador o conceito da equivalência substancial, para identificação de eventuais diferenças entre o novo alimento e o seu correspondente convencional.

Para avaliar a segurança de uma matéria-prima alimentar geneticamente modificada ou sua equivalência ao alimento convencional, é recomendável que quatro elementos principais sejam analisados mais detidamente: (1) a variedade parental, ou seja, a planta que deu origem à nova matéria-prima geneticamente modificada; (2) o processo de transformação, incluindo a caracterização da construção utilizada e do evento resultante; (3) o produto do gene inserido e potencial toxicidade e alergenicidade e; (4) a composição da nova variedade resultante da transformação genética. O conjunto de dados dessas análises deve permitir a identificação e caracterização dos potenciais efeitos adversos associados com o consumo da nova matéria-prima, subsidiando as etapas de gerenciamento e comunicação de risco.

*Z. mays* é uma espécie bem caracterizada, havendo um sólido histórico de segurança para consumo humano. No processo são apresentadas informações que abrangem a origem, domesticação, taxonomia, reprodução e variações em sua composição <sup>(45)</sup>, que refletem o profundo grau de conhecimento acerca dessa espécie. O milho é usado basicamente como um componente da alimentação dos povos através do mundo, além de ser um dos mais importantes grãos utilizados na produção de rações animais por ser uma das mais concentradas fontes de energia, contendo mais energia metabolizável – ou nutrientes digeríveis – do que qualquer outro grão. As plantas e os grãos de milho não são considerados tóxicos para o homem, animais domésticos ou espécies silvestres. Este cereal é a base da alimentação de grandes grupos de pessoas na América Latina, Ásia e África. Nos Estados Unidos, Europa e Japão, é geralmente usado como alimento para animais. O milho é palatável, prontamente digerido pelo homem e por animais monogástricos e ruminantes e tem um histórico de uso seguro como alimento humano e na ração animal.

O processo de obtenção do milho GA21 consistiu no bombardeamento do material vegetal com partículas revestidas com o material genético de interesse. Uma vez que esse é um processo físico de transferência de moléculas de ADN, que não conta com intermediação de qualquer agente biológico e é realizado sob condições de assepsia, são praticamente desprezíveis as chances de que moléculas de ADN que não aquelas da construção gênica presente nas partículas sejam transferidas para as células vegetais. Nenhuma das sequências introduzidas no evento GA21 ou de seus doadores são conhecidas como patogênicas para os seres humanos. As proteínas EPSPS são ubíquas na natureza e estão naturalmente presentes em alimentos derivados de fontes vegetais e microbianas presentes na dieta normal de humanos e animais <sup>(5, 13, 20)</sup>.

A análise da composição química da variedade obtida por transgenia, principalmente dos níveis de seus nutrientes e de eventuais compostos tóxicos naturalmente presentes, visa garantir que essa nova variedade seja tão nutritiva e segura quanto seu equivalente convencional. Desse modo, serve para confirmar que os efeitos intencionais da modificação não comprometeram sua segurança nem resultaram em efeitos não-pretendidos. A presença e os níveis de constituintes naturais em alimentos e rações foram analisados e comparados com isolinhas não modificadas geneticamente e dados da literatura <sup>(22)</sup>. Foram realizadas análises bromatológicas e quantificação de diversos componentes nutricionais do grão de milho, como carboidratos, proteína, umidade, gordura, cinza, amido, fibras, minerais, vitaminas, aminoácidos, ácidos graxos, metabólitos secundários e anti-nutrientes <sup>(35)</sup>. Essas análises indicaram que os níveis de componentes mensurados não haviam mudado além da variação natural no milho. Nenhum padrão consistente emergiu que sugerisse que mudanças biologicamente significativas na composição ou valor nutritivo do grão ou forragem ocorreram em consequência da transformação ou expressão do transgene *mepsps*. Os dados corroboram os estudos de Grant e colaboradores <sup>(19)</sup> que concluíram que o emprego do milho para silagem ou grão não altera o valor nutricional do alimento. Erickson e colaboradores <sup>(14)</sup> verificaram não haver alteração de valor nutricional na alimentação do gado. Da mesma forma, estudos em aves com dietas com OGM específicos também não demonstraram alterações <sup>(42)</sup>.

Como mencionado anteriormente, a sequência de aminoácidos de enzima mEPSPS expressa no milho GA21 é 99,3% idêntica à sequência da enzima endógena do milho convencional. A análise de aminoácidos inserida na enzima mEPSPS não apresenta homologia com proteínas tóxicas para mamíferos e não se julga que apresente potencial tóxico para humanos. A ausência de toxicidade também foi comprovada com estudos em animais empregando-se altas doses de proteína purificada.

Estudos com duração de 90 dias em roedores não indicaram alteração nesses animais com doses de até 400mg/kg de CP4 EPSPS derivada de *Escherichia coli*. A proteína é degradada em menos de 15

segundos na presença de pepsina e 10 minutos na presença de tripsina. A suscetibilidade da proteína mEPSPS à degradação proteolítica foi avaliada em fluido gástrico simulado de mamíferos contendo pepsina. A proteína mEPSPS obtida de *E. coli* e de milho foi rapidamente degradada, não tendo sido detectada intacta em amostragem da mistura de reação no primeiro intervalo de amostragem (um minuto). Nenhum fragmento imuno-reativo de mEPSPS pode ser detectado após incubação de cinco minutos em fluido gástrico simulado de mamíferos<sup>(37)</sup>. Estes dados corroboram o entendimento da EFSA<sup>(11)</sup> que afirma não haver alterações de toxicidade ou alergenicidade previsíveis por estudos de bioinformática em estudos de digestibilidade *in vitro* e em estudos experimentais *in vivo*.

A toxicidade da proteína mEPSPS (pureza 83% p.p.) foi avaliada por via oral forçada em única dose de 2.000mg/kg de peso corpóreo a camundongos CD-1 de ambos os sexos. Esta dose foi selecionada por representar a dose limite para este tipo de estudo. Após 15 dias, os animais foram sacrificados e submetidos à necropsia completa. Não foram verificados quaisquer efeitos sobre a ingestão alimentar, peso corpóreo e ganho de peso, perfil hematológico, histologia de todos os órgãos, que pudessem ser associados à exposição ao milho GA-21. Algumas alterações verificadas nos exames de bioquímica sérica foram consideradas inconsistentes e não dependentes da exposição ao milho transgênico<sup>(39)</sup>.

Em outro estudo, ratos ALpk:APf SD machos e fêmeas receberam o milho GA21 em concentrações de 10% ou 41,5% na ração. A seleção dos níveis de oferta do milho foi feita considerando que a concentração mais baixa (10%) representa um nível "pelo menos equivalente ao consumo dietético crônico humano de milho (3 mg/kg/dia)". O nível mais alto (41,5%) foi selecionado "como o mais alto atingível sem causar desequilíbrio nutricional nos animais"<sup>(40)</sup>. O controle adotado foi um milho negativo para o evento GA21, fornecido nas mesmas concentrações. As rações experimentais foram fornecidas durante 90 dias, ao final dos quais os animais foram sacrificados e submetidos à necropsia completa. Não foram registrados efeitos em peso e ganho corpóreo, consumo da ração, estado clínico e desempenho funcional durante o estudo, perfil hematológico, pesos e histologia de órgãos, bem como não foram registradas alterações à oftalmoscopia e da bioquímica sérica dos animais expostos ao milho GA21<sup>(40)</sup>. Neste contexto de ausência de efeitos tóxicos do milho GA21 em ambos os estudos é relevante indicar que não foi encontrada homologia da sequência de aminoácidos da proteína sintase 5-enolpiruvil shikimate-3-fosfato duplo mutante de milho (mEPSPS) com quaisquer proteínas já identificadas como tóxicas<sup>(36)</sup>. Esses resultados corroboram as conclusões da Autoridade Europeia em Segurança Alimentar – EFSA<sup>(13)</sup>, que afirma que os resultados destes estudos não indicam ocorrência de efeitos adversos no consumo do milho GA21.

A enzima mEPSPS expressa no milho com evento GA21 não possui características típicas de alérgenos conhecidos, visto que o comportamento de proteínas alergênicas no trato digestivo está

bem caracterizado <sup>(4, 7, 21)</sup>. Não há regiões de homologia quando a sequência introduzida é comparada com sequências de alérgenos conhecidos. Além disso, muitos alérgenos alimentares são conhecidos por serem estáveis ao calor. Os dados apresentados mostraram que a incubação por 30 minutos a 65°C ou 95°C desativou a atividade enzimática específica de mEPSPS <sup>(38)</sup>, indicando uma probabilidade extremamente baixa desta proteína intacta ser absorvida através da mucosa intestinal durante o consumo e estabelecer afinidade imunoquímica por anticorpos, incluindo os anticorpos IgE, primariamente responsáveis pelas reações alérgicas <sup>(34)</sup>. Adicionalmente, dados disponíveis na literatura <sup>(44)</sup> têm indicado digestibilidade normal para as variedades de milho transgênico liberados para consumo humano. De fato, a enzima mEPSPS é rapidamente degradada por hidrólise ácida e enzimática quando exposta a fluidos que se assemelham aos fluidos gástricos ou intestinais.

Ante o exposto, a possibilidade de a proteína mEPSPS interferir em vias metabólicas ou funcionais ou estruturas relevantes é desprezível, tendo em vista a morfologia da planta, seu desempenho agrônomo, sua composição bioquímica, teor nutritivo e digestibilidade. Assim, não se espera que a transgenia provoque modificações genéticas inadvertidas na planta (silenciamento ou superexpressão de genes endógenos) e, caso ocorram tais modificações, estas não implicarão em efeitos adversos.

De acordo com os dados sobre equivalência nutricional e composicional do milho GA21 em relação a sua versão isogênica convencional, nenhum metabólito do milho GA21 tem potencial para se concentrar na cadeia alimentar, além daquele já esperado para o milho convencional amplamente cultivado. Em estudos de toxidez oral aguda em camundongos realizado com a proteína mEPSPS, foi observado que a proteína mEPSPS não apresentou efeito tóxico agudo a estes animais na mais alta dose testada. Nenhuma mortalidade relacionada com a substância teste ocorreu durante o estudo e nenhum sinal clínico atribuível à substância teste foi observado <sup>(39)</sup>.

Adicionalmente, o milho GA21 já foi liberado para consumo humano e animal nos Estados Unidos, Japão, Canadá, Argentina, México, África do Sul, Austrália, Nova Zelândia, Filipinas, Tailândia e China, sendo que em alguns países há pelo menos 10 anos, mostrando um histórico seguro de consumo sem efeitos adversos cientificamente comprovados <sup>(1)</sup>.

Ante o exposto, conclui-se não haver indicações de que o consumo do milho GA21 ou produtos dele derivados apresentem riscos à vida e saúde dos animais ou de humanos, sendo tão seguro quanto os milhos convencionais comercializados no Brasil e que é negligenciável a possibilidade de causar dano à saúde humana ou animal.

## V. Aspectos Ambientais

O milho é uma planta monóica: um único indivíduo contém flores masculinas e femininas localizadas separadamente. As plantas de milho são plantas de fecundação cruzada e largamente

polinizadas com ajuda do vento, insetos, gravidade e outros. A introdução dos elementos gênicos anteriormente descritos não alterou as características reprodutivas da planta. Portanto, as mesmas chances de fecundação cruzada que existem entre híbridos e linhagens de milho convencionais - não geneticamente modificadas - existirão entre plantas do evento GA21 e outras plantas de milho.

O fluxo gênico no milho pode ocorrer por meio da transferência de pólen e da dispersão de sementes. A dispersão de sementes é facilmente controlada, uma vez que a domesticação do milho eliminou os mecanismos ancestrais de dispersão de sementes e o movimento de pólen é o único meio efetivo de escape de genes de plantas de milho. O milho é uma planta alógama e anual, polinizada predominantemente pelo vento e as distâncias que o pólen pode viajar dependem do padrão do vento, umidade e temperatura. O pólen de milho se dispersa livremente nas imediações da área cultivada com essa gramínea, podendo atingir os estilo-estigmas do mesmo genótipo ou de genótipos diferentes e, em condições adequadas, inicia a sua germinação, originando o tubo polínico que promove a fecundação do óvulo dentro do período médio de 24 horas. Estudos sobre dispersão de pólen de milho têm sido conduzidos, sendo que alguns deles mostram que o pólen de milho pode deslocar-se a longas distâncias. Porém, a maioria do pólen liberado é depositada próxima à cultura, com taxa de translocação muito baixa fora da cultura fonte: mais de 95% do pólen alcança distâncias dentro de 60 m de sua fonte <sup>(32)</sup>. O agente de polinização predominante no milho é o vento e a distância que o pólen viável pode percorrer depende dos padrões de vento, umidade e temperatura. Luna e colaboradores <sup>(26)</sup> avaliaram a distância de isolamento e o controle de pólen, e demonstraram que a polinização cruzada ocorre em uma distância máxima de 200 m e nenhuma polinização cruzada aconteceu em distâncias iguais ou superiores a 300 metros em relação às fontes de pólen, em condição de não despendoamento. Os resultados indicam que a viabilidade do pólen é mantida por 2 h e que a polinização cruzada não foi observada em distâncias de 300 metros da fonte de pólen.

Comparando-se as concentrações a 1 m da cultura fonte sob ventos baixos a moderados estimou-se que, aproximadamente, 2% de pólen são anotados a 60 m, 1,1% a 200 m e 0,75-0,5% a 500 m de distância. A 10 m de um campo, em média, o número de grãos de pólen por unidade de área é dez vezes menor que o observado a 1 m da borda. Portanto, se as distâncias estabelecidas de separação desenvolvidas para produção de sementes de milho são observadas, espera-se que a transferência de pólen às variedades adjacentes seja minimizada, sendo improvável a presença de materiais genéticos com tolerância ao glifosato.

No Brasil, não existem espécies aparentadas do milho em distribuição natural. Contudo, o fluxo gênico para variedades locais de polinização aberta é possível, mas apresenta o mesmo risco causado pelos genótipos comerciais disponíveis no mercado. No caso específico do cruzamento entre o milho GA21 e variedades crioulas, não se espera pressão seletiva pelo manejo do pequeno

agricultor: o transgene não será incorporado ao genoma das variedades crioulas porque, na prática, o pequeno agricultor não utiliza herbicidas.

Do ponto de vista agrônomo, é possível a coexistência entre cultivares de milho convencional (melhoradas ou crioulas) e transgênico <sup>(8, 28)</sup>. As comunidades antigas e agricultores modernos têm sabido conviver, sem problemas, com as diferentes cultivares de milho, mantendo suas identidades genéticas ao longo do tempo.

A possibilidade da planta transgênica se tornar uma espécie daninha, bem como o cruzamento do milho GA21 com outras plantas de milho originar uma planta daninha é desprezível, em virtude das características biológicas da espécie e ao fato de que o milho não sobrevive bem sem a intervenção do homem, resultado da seleção feita durante a sua evolução. O milho é a espécie que atingiu o mais elevado grau de domesticação entre as plantas cultivadas, tendo perdido suas características de sobrevivência na natureza como, por exemplo, a eliminação da degrana. Assim, o milho é uma planta incapaz de sobreviver em condições naturais, quando não assistida tecnicamente. Neste sentido, é esperado que o milho GA21 tenha um comportamento ambiental semelhante ao milho comum sendo, portanto, negligenciável a possibilidade de se transformar numa planta invasora ou daninha.

A possibilidade do gene *mepsps* da planta transgênica passar para outros organismos, como por exemplo, microrganismos do solo é praticamente nula <sup>(29, 41)</sup>. O gene *epsps* é comum a plantas, fungos e microrganismos, ocorre abundantemente na natureza, não resultando em risco significativo para a microbiota do solo. Adicionalmente, não há evidências de que genes de plantas tenham sido alguma vez transferidos a bactérias nas condições naturais.

O glifosato é um composto organofosforado que não afeta o sistema nervoso e apresenta elevada eficiência na eliminação de plantas daninhas, sendo considerado pouco tóxico (classe toxicológica IV). É um herbicida de amplo espectro, não seletivo, que mata plantas por inibição da enzima sintase 5-enolpiruvil shikimate-3-fosfato (EPSPS), importante para a biossíntese de aminoácidos aromáticos. Está registrado no Brasil no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, no Ministério do Meio Ambiente – MMA e possui monografia aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA <sup>(3)</sup>. O uso do herbicida glifosato em lavouras de milho GA21 deve observar normas pertinentes, como por exemplo, a Lei 7.802, de 11 de julho de 1989 (Lei de Agrotóxicos).

## VI. 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*".

Estudos apresentados pela requerente demonstraram que não houve diferença significativa entre os híbridos de milho derivados de linhagens não modificadas e o milho GA21 com relação a características agrônômicas, modo de reprodução, disseminação ou capacidade de sobrevivência. Todas as evidências apresentadas no processo e em referências bibliográficas confirmam o nível de risco da variedade transgênica como equivalente às variedades não transgênicas frente à microflora do solo, bem como a outros vegetais e à saúde humana e animal. Assim, o cultivo e o consumo do milho GA21 não são potencialmente causadores de significativa degradação do meio ambiente ou de riscos à saúde humana e animal. Por essas razões, não há restrições ao uso deste milho ou seus derivados, exceto nos locais contemplados pela Lei 11.460, de 21 de março de 2007.

O fluxo gênico vertical para variedades locais (chamados milhos crioulos) de polinização aberta é possível e apresenta o mesmo risco causado pelos genótipos comerciais disponíveis no mercado (80% do milho convencional plantado no Brasil provêm de sementes comerciais que passaram por um processo de melhoramento genético). A coexistência entre cultivares de milhos convencionais (melhoradas ou crioulas) e cultivares transgênicas de milhos é possível do ponto de vista agrônômico<sup>(8, 28)</sup> e deve seguir o disposto na Resolução Normativa nº 4 da CTNBio.

Após dez anos de uso em diversos países, não foi detectado problema algum para a saúde humana e animal ou para o meio ambiente que possa ser atribuído a milhos transgênicos. É necessário enfatizar que a falta de efeitos negativos resultantes do cultivo de plantas transgênicas de milho não quer dizer que eles não possam vir a acontecer. Risco zero e segurança absoluta não existem no mundo biológico, muito embora já exista um acúmulo de informações científicas confiáveis e um histórico seguro de uso de dez anos que nos permite afirmar que o milho GA21 é tão seguro quanto as versões convencionais. Assim, a requerente deverá conduzir monitoramento pós-liberação comercial nos termos da Resolução Normativa nº 3 da CTNBio.

#### **VII. Considerações sobre particularidades das diferentes regiões do País (subsídios aos órgãos de fiscalização):**

No Brasil, não existem espécies aparentadas do milho em distribuição natural.

#### **VIII. Conclusão**

Considerando que a variedade de milho (*Zea mays*) GA21 pertence a espécie bem caracterizada e com sólido histórico de segurança para consumo humano e que o gene *mepsps* introduzido nessa variedade codifica proteína ubíqua na natureza, presente em plantas, fungos e microrganismos que fazem parte da dieta alimentar de seres humanos e animais.

Considerando que a construção gênica utilizada para inserir esse gene em milho resultou na inserção estável de uma cópia funcional de *mepsps*, a qual proporcionou tolerância das plantas ao herbicida glifosato.

Considerando que dados de composição centesimal não apontaram diferenças significativas entre as variedades geneticamente modificadas e as convencionais, sugerindo a equivalência nutricional entre elas.

Considerando ainda que:

1. 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.
2. Não há no Brasil espécies silvestres com que o milho possa se intercruzar, já que a espécie silvestre mais próxima ao milho é o teosinte, encontrado apenas no México e em alguns locais da América Central, onde pode cruzar com o milho cultivado em campos de produção.
3. A proteína mEPSPS foi detectada em baixos níveis nos tecidos analisados e apresentou grande suscetibilidade à digestão em simulados de fluidos gástricos, não demonstrando toxicidade aguda em mamíferos ou similaridade com alérgenos conhecidos.
4. A modificação genética introduzida no evento GA21 não resultou em diferenças importantes de composição química relativa a nutrientes, estando dentro da faixa de variação normal entre as variedades convencionais.
5. A molécula de ADN é um componente natural dos alimentos, não apresentando nenhuma evidência que esta molécula possa ter efeito adverso ao homem quando ingerida em alimentos em quantidades aceitáveis (nenhum efeito tóxico direto).
6. Não existe evidência alguma que genes intactos de plantas possam ser transferidos e funcionalmente integrados no genoma humano ou de outros mamíferos expostos a este ADN ou alimentos fabricados com estes elementos <sup>(15)</sup>.
7. A requerente respondeu a todos os questionamentos postulados na Instrução Normativa nº 20 da CTNBio e que nenhum dos quesitos indicam que este milho possa apresentar efeitos adversos na alimentação humana ou animal.
8. A possibilidade da planta transgênica se tornar uma espécie daninha, bem como o cruzamento do milho GA21 com outras plantas de milho, originar uma planta daninha é desprezível.
9. A proteína mEPSPS é comum em plantas, fungos e microrganismos e a exposição dos organismos vivos e do meio ambiente a essa proteína é um evento que ocorre abundantemente na natureza, não resultando em risco significativo para a microbiota do solo.
10. A coexistência entre cultivares de milhos convencionais (melhoradas ou crioulas) e cultivares transgênicas de milhos é possível do ponto de vista agrônômico, devendo-se observar o disposto na Resolução Normativa nº 4 da CTNBio.

11. O Anexo III do Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança (Decreto 5.705, de 16 de fevereiro de 2006) dispõe que os riscos associados aos organismos vivos modificados ou aos produtos deles derivados, a saber, materiais beneficiados que têm como origem um organismo vivo modificado, contendo combinações novas detectáveis de material genético replicável obtido por meio do uso de biotecnologia moderna, devem ser considerados no contexto dos riscos apresentados pelos receptores não-modificados ou organismos parentais no provável meio receptor.
12. O histórico de uso desta variedade transgênica no mundo aponta para grande acúmulo de informações científicas confiáveis que indicam ser esta variedade tão segura para o meio ambiente e para a saúde humana e animal quanto as variedades de milhos híbridos que vêm sendo utilizadas.
13. Após dez anos de uso em diversos países, não foi detectado problema algum para a saúde humana e animal ou para o meio ambiente que possa ser atribuído a milhos transgênicos.

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 GA21 é tão seguro quanto seu equivalente convencional.

A CTNBio considera que essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou de agravos à saúde humana e animal. As restrições ao uso do OGM em análise e seus derivados estão condicionadas ao disposto na Lei 11.460, de 21 de março de 2007, na Resolução Normativa nº 03 e na Resolução Normativa nº 04 da CTNBio.

A análise da CTNBio considerou os pareceres emitidos pelos membros da Comissão; por consultores *ad hoc*; documentos aportados na Secretaria Executiva da CTNBio pela requerente; resultados de liberações planejadas no meio ambiente; palestras, textos e discussões da audiência pública, realizada em 20/03/2007. Foram também considerados e consultados estudos e publicações científicas independentes da requerente, realizados por terceiros.

Conforme o Anexo I da Resolução Normativa nº 5, de 12 de março de 2008, a requerente terá o prazo de 30 (trinta dias) a partir da publicação deste Parecer Técnico, para adequar sua proposta de plano de monitoramento pós-liberação comercial.

## IX. Bibliografia citada

1. AGBIOS. 2008. Database product description: Information on GM Approved Products: GA21. <http://www.agbios.com/dbase.php?action=Submit&evidx=1>
2. ALVES FILHO, J.P. 2001. Agrotóxicos e Agenda 21: sinais e desafios da transição para uma agricultura sustentável. In: II SINTAG Anais. II Simpósio Internacional de Tecnologia de Aplicação de Agrotóxicos: Eficiência, Economia e Preservação da Saúde Humana e do Ambiente, Jundiaí, SP, 17/07/2001 a 20/07/2001.

3. ANVISA. 2008. <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/g01.pdf>.
4. ASTWOOD, J.; LEACH, J. N.; FUCHS, R. L. 1996. Stability of food allergens to digestion *in vitro*. *Nat. Biotech.* 14: 1269-1273.
5. AUSTRALIA NEW ZEALAND FOOD AUTHORITY. 2001. Food derived from glyphosate-tolerant line corn GA21: a safety assessment. Technical Report Series N° 7, 25pp.
6. BAHIA FILHO, A.F.C.; GARCIA, J.C. 2000. Análise e avaliação do mercado brasileiro de sementes de milho. In: UDRY, C.V.; DUARTE, W.F. (Org.) Uma história brasileira do milho: o valor de recursos genéticos. Brasília: Paralelo 15, 167-172.
7. BANNON, G. A.; COCKRELL, G.; CONNAUGHTON, C.; WEST, C. M.; HELM, R.; STANLEY, J. S.; KING, N.; RABJOHN, P.; SAMPSON, H. A.; BURKS, A. W. 2001. Engineering, characterization and *in vitro* efficacy of the major peanut allergens for use in immunotherapy. *Int Arch. Allergy Immunol.* 124(1-3), 70-72.
8. BROOKES, G.; BARFOOT, P.; MELÉ, E.; MESSEGUER, J.; BÉNÉTRIX, F. BLOC, D.; FOUEILLASSAR, X; FABIÉ, A.; POEYDOMENGE, C. 2004. Genetically modified maize: pollen movement and crop co-existence. Dorchester, UK: PG Economics, 20pp. ([www.pgeconomics.co.uk/pdf/Maizepollen2004final.pdf](http://www.pgeconomics.co.uk/pdf/Maizepollen2004final.pdf))
9. CONAB. Milho total (1ª e 2ª safra) Brasil - Série histórica de área plantada: safra 1976-77 a 2006-07. <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/MilhoTotalSerieHist.xls>
10. DEPICKER, A.; SATCHEL, S.; DHAESE, P.; ZAMBRISKY, P.; GOODMAN, H.M. 1982. Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. *J. Mol. Appl. Gen.* 1: 561-573.
11. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. 2003. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference CE/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto. *The EFSA Journal* 10: 1-13.
12. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. 2007. Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. *The EFSA Journal* 99: 1-100.
13. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. 2007a. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on applications (references EFSA-GMO-UK-2005-19 and EFSA-GMO-RX-GA21) for the placing on the market of glyphosate-tolerant genetically modified maize GA21, for food and feed uses, import and processing and for renewal of the authorisation of maize GA21 as existing product, both under Regulation (EC) No 1829/2003 from Syngenta Seeds S.A.S. on behalf of Syngenta Crop Protection AG. *The EFSA Journal* 541: 1-25.
14. ERICKSON, G. E.; ROBBINS, N. D.; SIMON, J. J.; BERGER, L. L.; KLOPFENSTEIN, T. J.; STANISIEWSKI E. P.; HARTNELL, G. F. 2003. Effect of feeding glyphosate-tolerant (Roundup-Ready events GA21 or nk603) corn compared with reference hybrids on feedlot steer performance and carcass characteristics. *J Anim Sci* 81: 2600-2608.
15. FAO/WHO – Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organisation. 2000. Safety Aspects of Genetically Modified Foods of Plant Origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, 29 May – 2 June 2000. World Health Organisation, WHO Headquarters, Geneva, Switzerland. 35pp. ([http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/en/ec\\_june2000\\_en.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/en/ec_june2000_en.pdf))
16. FAO/WHO – Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organisation. 2000a. Grassland Index. *Zea mays* L. (<http://www.fao.org/WAICENT/faoinfo/agricult/agp/agpc/doc/gbase/data/pf000342.htm>)

17. FAO/WHO – Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación / Organización Mundial de la Salud. 2004. Codex Alimentarius: Alimentos obtenidos por medios biotecnológicos. Roma: FAO, 57pp.
18. FAO/WHO – Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organisation. 2007. FAOSTAT. <http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx>.
19. GRANT, R. J.; FANNING, K. C.; KLEINSCHMIT, D.; STANISIEWSKI, E. P.; HARTNELL, G. F. 2003. Influence of Glyphosate-Tolerant (event nk603) and Corn Rootworm Protected (event MON863) Corn Silage and Grain on Feed Consumption and Milk Production in Holstein Cattle. *J Dairy Sci* 86: 1707-1715.
20. HEALTH CANADA. 1999. Glyphosate Tolerant Corn, GA21: novel food information – food biotechnology. <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/gmf-agm/appro/ofb-099-133-a-eng.php>
21. HILEMAN, R. E.; SILVANOVICH, A.; GOODMAN, R. E.; RICE, E. A.; HOLLESCHAK, G.; ASTWOOD, J. D.; HEFLE, S. L. 2002. Bioinformatic methods for allergenicity assessment using a comprehensive allergen database. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 128, 280–291.
22. INTERNATIONAL LIFE SCIENCE INSTITUTE – ILSI. 2004. Nutritional and safety assessments of foods and feeds nutritionally improved through biotechnology. *Compr. Rev. Food Sci. Saf.* 3: 35-104.
23. KLEIN, T.M.; WOLF, E.D.; WU, R.; SANFORD, J.C. 1987. High velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature* 327:70-73.
24. LEBRUN, M.; LEROUX, B.; SAILLAND, A. 1996. Chimeric gene for the transformation of plants. U.S. patent number 5,510,471.
25. LEBRUN, M.; SAILLAND, A.; FREYSSINET, G.; DEGRYSE, E. 2003. Muted 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene coding for said protein and transformed plants containing said gene. Bayer CropScience S.A. (Lyons, FR) Patent #6,556,587.
26. LUNA, S.V.; FIGUEROA, J.M.; BALTAZAR, M.B.; GOMEZ, L.R.; TOWNSEND, R. E SCHOPER, J.B. 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Sci.* 41:1551-1557.
27. MCELROY, D.; ZHANG, W.; CAO, J.; WU, R. 1990. Isolation of an efficient actin promoter for use in rice transformation. *Plant Cell* 2: 163-171.
28. MESSEGUER, J.; PEÑAS, G.; BALLESTER, J.; BAS, M.; SERRA, J.; SALVIA, J.; PALAUDELMÀS, M.; MELÉ, E. 2006. Pollen-mediated gene flow in maize in real situations of coexistence. *Plant Biotechnology Journal.* 4:633-645.
29. NIELSEN, K.M.; BONES, A.M.; SMALLA, K.; VAN ELSAS, J.D. 1998 Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria – a rare event? *FEMS Microbiology Reviews* 22, 79-103.
30. ORGANISATION FOR ECONOMICAL COOPERATION AND DEVELOPMENT – OECD. 2003. Considerations for the safety assessment of animal feedstuffs derived from genetically modified plants. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, N° 9. 46 pp. Disponível em: [http://www.ois.oecd.org/olis/2003doc.nsf/LinkTo/NT0000426A/\\$FILE/JT00147696.PDF](http://www.ois.oecd.org/olis/2003doc.nsf/LinkTo/NT0000426A/$FILE/JT00147696.PDF).
31. PATERNIANNI, E.; CAMPOS, M.S. 1999. Melhoramento do milho. In: BORÉM, A. (Ed.) Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa: UFV, p. 429-486.
32. RAYNOR, G.; OGDEN, E. C.; HAYES, J. V. 1972. Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. *Agron. J.* 64: 420-427.
33. SOCIETY OF TOXICOLOGY. 2003. The safety of genetically modified foods produced through biotechnology. *Toxicol. Sci.* 71: 2-8.

34. SYNGENTA SEEDS LTDA. 2006. Processo 01200.000062/2006-21 – Apêndice 3. Análise Western Blot de extratos de folhas de plantas de milho derivado do evento GA21 usando seis diferentes anticorpos policlonais anti-mEPSPS. p. 1.833-1.847.
35. SYNGENTA SEEDS LTDA. 2006. Processo 01200.000062/2006-21 – Apêndice 9. Análise da composição química do grão e da forragem do milho evento GA21 expressando a sintase do mutante duplo de milho 5-enolpiruvil shikimate-3-fosfato (mEPSPS). P. 2.046-2.104.
36. SYNGENTA SEEDS LTDA. 2006. Processo 01200.000062/2006-21 – Apêndice 11. Sintase 5-Enolpiruvil Shikimate-3-Fosfato duplo mutante de milho (mEPSPS) expressa no milho geneticamente modificado evento GA21: avaliação da homologia da sequência de aminoácidos com toxinas conhecidas. p. 2.123-2.225.
37. SYNGENTA SEEDS LTDA. 2006. Processo 01200.000062/2006-21 – Apêndice 13. Digestibilidade *in vitro* da sintase 5-enolpiruvil shikimate-3-fosfato (mEPSPS) das substâncias teste GA21-0104 e IAP21-0105 do milho duplo mutante sob condições gástricas simuladas de mamíferos. p. 2.277-2.295.
38. SYNGENTA SEEDS LTDA. 2006. Processo 01200.000062/2006-21 – Apêndice 14. Efeito da temperatura na estabilidade da enzima duplo mutante de milho 5-enolpiruvil shikimate-3-phosphato sintase (mEPSPS). p. 2.296-2.306.
39. SYNGENTA SEEDS LTDA. 2006. Processo 01200.000062/2006-21 – Apêndice 15. GA21-0104: Estudo de toxicidez por dose oral única em camundongo. p. 2.309-2.500.
40. SYNGENTA SEEDS LTDA. 2006. Processo 01200.000062/2006-21 – Apêndice 19. Grão de milho Evento GA21: Estudo de segurança de alimento integral de 90 dias em ratos. p. 2.550-3.917.
41. SIQUEIRA, J. O. ; TRANNIN, I. C. B.; RAMALHO, M. A. P. ; FONTES, E. M. G. 2004. Interferências no agrossistemas e riscos ambientais de culturas transgênicas tolerantes a herbicidas e protegidas contra insetos. Cadernos de Ciências e Tecnologia 21: 11-81.
42. TAYLOR, M. L.; HARTNELL, G. F.; RIORDAN, S. G.; NEMETH, M. A.; KARUNANANDAA, K.; GEORGE, B; ASTWOOD, J. D. 2003. Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from roundup ready (NK603), yieldgard x roundup ready (MON810 x NK603), non-transgenic control, or commercial corn. Poultry Sci. 82: 443-453.
43. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. 2007. Toxicological principles for the safety assessment of food ingredients: Redbook 2000. <http://www.cfsan.fda.gov/~redbook/redtoca.html>
44. WATANABE, E.; MARIN, V.A.; NUTTI, M.R. 2003. Avaliação da segurança alimentar. In: BORÉM, A.; GIUDICE, M.P.; COSTA, N.M.B. (Ed.) Alimentos geneticamente modificados. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 302 pp.
45. WATSON, S.A.; RAMSTAD, P.E. 1987. Corn: chemistry and technology. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1.ed. 604pp.

## IX. Bibliografia consultada

Também foram consultados:

1. ALTIERI, M. A. 2005. The myth of coexistence: why transgenic crops are not compatible with agroecologically based systems of production. Bull. Sci. Technol. & Soc. 25: 361-371.
2. ASTWOOD, J. D.; FUCHS, R. L. 2001. Status and safety of biotech crops. In: BAKER, D. R.; UMETSU, N. K. (editors) Agrochemical discovery: insect, wood and fungal control. Am. Chem. Soc. Symp. Series: No. 774, p. 152-164.

3. AUMAITRE, A. 2000. New feeds from genetically modified plants: substantial equivalence, nutritional equivalence, digestibility, and safety for animals and the food chain. *Livest. Prod. Sci.* 74: 223A.
4. DONKIN, S. S.; VELEZ, J. C.; TOTTEN, A. K.; STANISIEWSKI, E. P.; HARTNELL, G. F. 2003. Effects of feeding silage and grain from glyphosate-tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion and milk production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 1780-1788.
5. FORSBACH, A.; SCHUBERT, D.; LECHTENBERG, B.; GILS, M.; SCHMIDT, R. 2003. A comprehensive characterization of single-copy T-DNA insertions in the *Arabidopsis thaliana* genome *Plant Mol. Biol.* 52: 161-176.
6. GARCIA, M. A.; ALTIERI, M. A. 2005. Transgenic crops: implications for biodiversity and sustainable agriculture. *Bull. Sci. Technol. & Soc.* 25: 335-353.
7. GRAEF, F.; STACHOW, U.; WERNER, A.; SCHÜTTE, G. 2007. Agricultural practice changes with cultivating genetically modified herbicide-tolerant oilseed rape. *Agricult. Syst.* 94:111-118.
8. HARRISON, L. A.; BAILEY, M. R.; NAYLOR, M.; REAM, J.; HAMMOND, B.; NIDA, D. L.; BURNETTE, B.; NICKSON, T. E.; MITSKY, T.; TAYLOR, M. L.; FUCHS, R. L.; PADGETTE, S. R. 1996. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice. *J. Nutr.* 126: 728-740.
9. LADICS, G. R.; HOLSAPPLE, M. P.; ASTWOOD, J. D.; KIMBER, I.; KNIPPELS, L. M. J.; HELM, R. M.; DONG, W. 2003. Workshop overview: approaches to the assessment of the allergenic potential of food from genetically modified crops. *Toxicol. Sci.* 73: 8-16.
10. LATHAM, J.R.; WILSON, A. K.; STEINBRECHER, R. A. 2006. The mutational consequences of plant transformation. *J. of Biomed. Biotech.* 2006: 1-7.
11. MCCLELLAN, R. O. 1999. Human health risk assessment: an historical overview and alternative paths forward. *Inhal. Toxicol.* 11: 477-518.
12. ORGANISATION FOR ECONOMICAL COOPERATION AND DEVELOPMENT – OECD. 2006. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 4. Health effects. Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Part on Chemicals, Pesticides and Biotechnology. OECD Environment, Health and Safety Publication. Organization for Economic Co-operation and Development. <http://www.oecd.org>
13. RIAZ, T.; HOR, H. L.; KRISHNAN, A.; TANG, F.; LI, K-B. 2005. WebAllergen: a web server for predicting allergenic proteins. *Bioinf.* 21: 2570-2571. <http://weballergen.bii.a-star.edu.sg/>
14. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. 2001. Toxicology testing handbook: principles, applications, and data interpretation. Marcel Dekker, Inc. New York: 428p.
15. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. 2006. Recommendations for the early food safety evaluation of new-pesticidal proteins produced by new plant varieties intended for food use. Center for Food Safety and Applied Nutrition. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/bioprgu2.html>
16. U.S. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1983. Risk assessment in the Federal Government: managing the process. Commission on Life Science. Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health. National Academy Press, Washington, DC: 1-8.

Walter Colli

Presidente da CTNBio

### Votos divergentes:

Os membros da CTNBio, Drs. Graziela Almeida da Silva (Subcomissão Setorial Permanente de Saúde Humana), Kenny Bonfim (Subcomissão Setorial Permanente de Saúde Humana), José Maria Gusman Ferraz (Subcomissão Setorial Permanente Ambiental) e Leonardo Melgarejo (Subcomissão Setorial Permanente Ambiental), votaram contrariamente à liberação comercial do milho GA21.

O relator Dr. Paulo Yoshio Kageyama (Subcomissão Setorial Permanente Ambiental) emitiu parecer contrário à aprovação deste produto por entender que:

1. A caracterização genética e molecular do evento GA21 foi insuficiente ou inadequada: novos testes e dados seriam necessários.
2. Os testes de alergenicidade foram insuficientes, assim como a análise nutricional do milho GA21.
3. São necessários estudos de comparação do milho GA21 com isogênicos para avaliar aspectos de sobrevivência da planta, florescimento, morfologia dos grãos de pólen, compatibilidade genética e taxa de polinização.
4. Há necessidade de estudos de transferência horizontal do gene *mepsps* para plantas adventícias e bactérias da rizosfera.
5. Devem ser realizados estudos sobre os impactos da tecnologia milho GA21-herbicida sobre organismos não-alvo.
6. São necessários estudos de impactos ambientais com dados sobre a reação das comunidades faunísticas à cultura do milho GA21 nos diversos ecossistemas do Brasil e com utilização de herbicidas a base de glifosato.
7. Há necessidade de estudos para verificar os efeitos da sucessão milho-soja resistentes ao glifosato na mesma área e estudos sobre a possibilidade de desenvolvimento de plantas resistentes ao herbicida a base de glifosato.
8. A requerente deve apresentar resultados mais confiáveis cientificamente em relação aos 24 experimentos aportados, devendo manifestar-se com relação às incertezas identificadas.

O relator Dr. Leonardo Melgarejo (Subcomissão Setorial Permanente Ambiental) emitiu parecer contrário à aprovação deste produto por considerar os seguintes pontos:

1. Existem riscos importantes associados a evidências de possíveis desarranjos no genoma, associados a imprecisão do método de biobalística e sustentados pela literatura científica internacional.
2. A estabilidade genética do transgene através de várias gerações não é suficientemente demonstrada.
3. A ausência de perigo para a saúde relacionada ao milho GA21 não é suficientemente demonstrada.
4. Não foram disponibilizadas respostas satisfatórias para os pontos 1, 3, 6 e 7 do Anexo III da Resolução Normativa nº 5 da CTNBio.
5. A manutenção das características nutricionais e biológicas do milho, após inserção do transgene, não é demonstrada de maneira consistente, sendo desprezados os efeitos interativos meio ambiente brasileiro – metabolismo da planta.
6. Os estudos relativos à eficácia agrônômica apresentam contradições e equívocos, fato agravado pela ausência dos dados obtidos durante as liberações planejadas autorizadas pela CTNBio.

7. É grande o potencial de risco a que se submetem os agricultores familiares face à inevitável contaminação de suas lavouras por transgene cuja estabilidade e inocuidade ainda não estão demonstradas.
8. É grande e será ampliado o potencial de expansão de plantas tolerantes e plantas resistentes, com impacto sobre o uso crescente do produto químico danoso ao ambiente.
9. Os impactos ambientais não foram corretamente avaliados e sugerem preocupações em relação à sustentabilidade da cultura do milho, notadamente na parcela sob controle dos agricultores de base familiar.
10. Os impactos ambientais foram avaliados sem levar em conta os impactos diretos e indiretos da tecnologia em seu conjunto sobre a fauna e flora não-alvo, sobre os meios aquáticos e o solo, bem como sobre os sistemas ali estabelecidos.
11. Os impactos ambientais foram avaliados de forma superficial, sem base científica e sem oferecer respostas adequadas aos itens 3, 4, 7, 8, 10 e 12 do Anexo IV da Resolução Normativa nº 5 da CTNBio.
12. O Brasil já expressou sua vontade no sentido de respeitar o Princípio da Precaução, referendando o Protocolo de Cartagena, que entrou em vigor em 22 de fevereiro de 2004, bem como no artigo 1º da Lei 11.105/2005.