

## PARECER TÉCNICO Nº 1596/2008

**Processo nº:** 01200.002293/2004-16

**Requerente:** Monsanto do Brasil Ltda.

**CNPJ:** 64.858.525/0001-45

**Endereço:** Av. Nações Unidas, 12901 Torre Norte – 7º e 8º andares CEP: 04578-000 – São Paulo – SP.

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

**Extrato Prévio:** nº134/2004, publicado em 09/06/2004

**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 Roundup Ready 2 Evento NK603, bem como de todas as progênies provenientes do evento de transformação NK603 e suas derivadas de cruzamento de linhagens e populações não transgênicas de milho com linhagens portadoras do evento NK603, concluiu pelo seu DEFERIMENTO nos termos deste parecer técnico.

A Monsanto do Brasil Ltda. solicitou à CTNBio Parecer Técnico para o livre registro, uso, ensaios, testes, sementeira, transporte, armazenamento, comercialização, consumo, importação, liberação e descarte de milho (*Zea mays*, L.) tolerante ao glifosato Milho Roundup Ready 2 Evento NK603. O milho NK603 expressa a proteína CP4 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (CP4 EPSPS) tolerante ao glifosato. O controle de plantas daninhas que é realizado pelo glifosato ocorre pela inibição da enzima EPSPS produzida naturalmente pela planta. Essa enzima catalisa uma etapa crítica na via metabólica do ácido shiquímico para a biossíntese de aminoácidos aromáticos em plantas e microorganismos. As proteínas CP4 EPSPS possuem baixa afinidade pelo glifosato, se comparada com a proteína EPSPS selvagem. Assim, quando o milho NK603 que expressa a proteína CP4 EPSPS é tratado com glifosato, as plantas continuam se desenvolvendo normalmente. A ação contínua da enzima CP4 EPSPS tolerante ao glifosato catalisa a síntese dos aminoácidos aromáticos necessários ao desenvolvimento normal das plantas. A via biossintética de aminoácidos aromáticos não é encontrada em animais, o que explica a atividade seletiva do glifosato em plantas e contribui para uma baixa toxicidade para mamíferos. Dois cassetes para a expressão do gene cp4 epsps foram introduzidos no genoma do milho através de um único inserto, produzindo o milho NK603. O gene cp4 epsps é derivado de uma bactéria comum de solo, *Agrobacterium* sp. cepa CP4, que codifica a expressão da proteína EPSPS naturalmente tolerante ao glifosato. O organismo doador do gene, *A. tumefaciens* cepa CP4 é uma bactéria comumente encontrada no solo e causa galhas em plantas susceptíveis, não havendo evidência científica que indique que possa causar efeitos adversos em humanos ou em animais. Testes de toxicidade foram realizados com a enzima EPSP-sintase isolada de vegetais transformados. A ingestão por gavagem gástrica de doses da molécula proteica superiores em até 1000 vezes às encontradas em sementes modificadas não causaram qualquer alteração fisiológica nos animais testados. Resultados da proteólise *in vitro* também comprovaram a rápida digestão e a inocuidade da proteína engenheirada, afastando eventuais suspeitas de alergenicidade. A proteína CP4 EPSPS não é tóxica, conforme demonstrado por um estudo de toxicidade oral aguda, no qual a CP4 EPSPS foi administrada em camundongos, na forma de dose única elevada. A proteína CP4 EPSPS foi produzida e purificada a partir da *Escherichia coli*, foi caracterizada e demonstrou ser equivalente à CP4 EPSPS produzida no milho. A proteína purificada foi administrada oralmente a camundongos para avaliação de sua toxicidade aguda. A administração aguda foi considerada apropriada para a avaliação da segurança da CP4 EPSPS, uma vez que as proteínas tóxicas atuam por meio de mecanismos agudos. O nível sem efeito observado (NOEL) para a toxicidade oral em camundongos foi de 572 mg/kg, a dose mais elevada testada. Este resultado representou uma margem de segurança de aproximadamente 260.000 vezes, com base no consumo médio diário de milho nos Estados Unidos e na expressão média de proteína no grão de milho geneticamente modificado tolerante ao glifosato (assumindo que não há perda de CP4 EPSPS durante o processamento). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no peso corporal, no peso corporal cumulativo ou no consumo de alimentos entre os grupos controle (com o veículo ou soro de albumina bovina) e grupos tratados com a proteína CP4 EPSPS purificada. As proteínas

Secretaria Executiva da CTNBio

SPO – Área 05 – Quadra 03 Bloco B – Térreo – Salas 08 a 10

Brasília, DF – CEP: 70610-200

Fones: (55)(61) 3411 5516 – FAX: (55)(61) 3317-7475

EPSPS são ubíquas na natureza e estão naturalmente presentes em alimentos derivados de fontes vegetais e microbianas e não apresentam homologia significativa de aminoácidos com proteínas conhecidas como tóxicas ou alergênicas a mamíferos. A proteína CP4 EPSPS demonstrou ser rapidamente digerida nos fluidos gástrico e intestinal *in vitro*. Além disso, proteínas EPSPS que possuem um histórico de uso seguro, já estão amplamente presentes na dieta. O milho é uma planta incapaz de sobreviver em condições naturais, quando não assistida tecnicamente. Não há, portanto, qualquer possibilidade de que o milho se transforme numa planta invasora ou daninha. Mesmo na eventualidade de haver um escape gênico, a probabilidade de fixação do alelo contendo a seqüência gênica que confere tolerância ao glifosato na população é muito reduzida na ausência de pressão de seleção. O milho NK603 demonstrou ser equivalente ao milho convencional, com exceção da característica de tolerância ao glifosato. Suas interações básicas com outros organismos no ambiente não são consideradas diferentes das interações do milho convencional. Embora haja o potencial de exposição de plantas daninhas, pragas e patógenos da cultura do milho às proteínas CP4 EPSPS e CP4 EPSPS L214P que são expressas no milho NK603, não existem preocupações de que tal processo venha causar efeitos negativos sobre tais populações. Por meio de transferência trófica e de processo de decomposição, os organismos não-alvo das proteínas CP4 EPSPS e CP4EPSPS L214P, como predadores e presas das pragas do milho, poderão ser expostos a níveis muito baixos destas proteínas sem, no entanto, haver evidências de efeitos negativos sobre esses organismos. A segurança ambiental da família de proteínas EPSPS é bem aceita, pois essas proteínas são ubíquas na natureza (bactérias, fungos, algas e plantas superiores), não possuem toxicidade conhecida, não têm associação com patogenicidade e não conferem vantagem seletiva às plantas que contêm essas proteínas. Por essas razões, não existem restrições ao uso deste milho ou de seus derivados seja para alimentação humana ou de animais. Adicionalmente, estas proteínas são provenientes da família de proteínas EPSPS que apresentam um longo histórico de consumo e exposição seguros, ocorrendo de maneira ubíqua em plantas e microorganismos. Estudos analíticos para comparação da composição dos grãos e da forragem do milho NK603 e com o milho convencional demonstram que o milho NK603 geneticamente modificado tolerante ao glifosato é substancialmente equivalente ao milho convencional. Com base nos estudos realizados, nos vários anos de comercialização do milho NK603 e de outras culturas tolerantes ao glifosato que expressam a proteína CP4 EPSPS, em conjunto com o histórico seguro do milho fonte de consumo para alimentação animal e humana, conclui-se que o milho NK603 tolerante ao glifosato ou milho Roundup Ready 2 é substancialmente equivalente e tão seguro quanto o milho convencional. A coexistência entre cultivares de milhos convencionais (melhoradas ou crioulas) e cultivares transgênicas de milhos é possível do ponto de vista agrônomico e deve seguir o disposto na Resolução Normativa nº 4 da CTNBio. 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 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, agricultura, saúde humana e animal.

## PARECER TÉCNICO DA CTNBio

### I. Identificação do OGM

Designação do OGM: Milho Roundup Ready 2 – Evento NK603

Requerente: Monsanto do Brasil Ltda.

Espécie: *Zea mays* - Milho

Característica Inserida: tolerância ao herbicida glifosato

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

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 Panicoidae, 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>(9)</sup>. A espécie silvestre mais próxima do milho é o teosinte, 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 tem um histórico de mais de oito mil anos nas Américas. 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>(4)</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 germoplasma. 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. O milho é cultivado comercialmente em mais de 100 países, com uma produção total estimada em 705 milhões de toneladas por ano.

O milho é uma das mais importantes fontes de alimento no mundo e é insumo para a produção de uma ampla gama de produtos. Na cadeia produtiva de suínos e aves consomem-se aproximadamente 70 a 80% do milho produzido no Brasil.

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>(11)</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>(8)</sup>.

O milho é uma das plantas mais eficientes na conversão de energia solar em alimentos e é utilizado como matéria-prima em muitos produtos. O incremento do consumo do milho foi da ordem de mais de 100 milhões de toneladas entre 1993 e 2001, representando um aumento médio de 11,1 milhões de toneladas por ano. Grande parte do aumento da produção do milho foi devido ao melhoramento genético que levou à produção de espigas com aproximadamente 1.000 grãos. O aumento na produção e consumo de milho no mundo está associado aos seus múltiplos usos, ao crescimento populacional, à mudança de hábito alimentar das populações e ao crescimento de setores da pecuária como a suinocultura e a avicultura.

O Brasil é o terceiro maior consumidor de defensivos agrícolas do mundo. Possuímos, hoje, 142 agrotóxicos registrados para o milho. Já existem vários casos de resistência pelo uso constante e indiscriminado de herbicidas na cultura do milho no Brasil. Segundo informa a CUT <sup>(24)</sup>, que cita dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), um milhão de pessoas são intoxicadas anualmente por defensivos agrícolas no Brasil. O Ministério da Saúde revelou que, em 16 estados brasileiros, o que mais afeta a saúde dos agricultores é o uso de defensivos agrícolas.

A adoção do milho tolerante a herbicida, como o milho NK603, tem proporcionado oportunidade de manejo eficiente de plantas daninhas e rotação de princípios ativos herbicidas na cultura do milho <sup>(13)</sup>. Um dos impactos é a redução do uso de herbicidas em pré-emergência da cultura. Os agricultores têm reduzido as taxas de herbicidas pré-emergentes aplicados no solo e, através do uso de herbicidas de amplo espectro, como o glifosato, têm controlado as plantas daninhas de maneira efetiva. A substituição de vários herbicidas por um herbicida de espectro mais amplo tem resultado em uma economia de aproximadamente 25 dólares/ha. Os estudos realizados nos Estados Unidos com o milho tolerante a herbicidas sugerem retornos econômicos positivos pelo uso apenas do glifosato ou do glifosato associado ao tratamento com herbicidas convencionais em pré-emergência <sup>(25)</sup>. Os estudos com milho NK603 também demonstraram uma maior flexibilidade para o uso do glifosato em pós-emergência nas estratégias de manejo de plantas daninhas <sup>(16)</sup>. Esses resultados estabelecem que o milho tolerante ao herbicida, inclusive o milho NK603, proporciona um aumento de produtividade enquanto diminui os custos com herbicidas <sup>(7)</sup>.

O milho NK603 tolerante ao herbicida glifosato, foi liberado pela primeira vez nos Estados Unidos para plantio e comercialização no ano de 2000 e, hoje ele já é cultivado, ou a sua

comercialização é permitida em 12 países: Argentina, Austrália, Canadá, China, União Européia, Japão, Coreia, México, Filipinas, África do Sul, Taiwan e USA <sup>(1)</sup>. O milho NK603 expressa proteínas CP4 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (CP4 EPSPS) tolerantes ao glifosato. A proteína CP4 EPSPS é uma das muitas proteínas EPSPS encontradas na natureza, as quais são produzidas por plantas, bactérias e fungos, mas não por animais, uma vez que estes não possuem a via metabólica para a sua síntese. Portanto, diferentes versões da proteína EPSPS estão normalmente presentes em todos os alimentos derivados de plantas e de microorganismos. O organismo doador do gene, *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4 é uma bactéria comumente encontrada no solo, ela causa galhas em plantas suscetíveis e não há nenhuma evidência científica que indique que possa causar efeitos adversos em seres humanos ou em animais.

É importante ressaltar, que o histórico de cultivo, comercialização, uso e experiência com outras culturas geneticamente modificadas que expressam a proteína CP4 EPSPS, desde a primeira comercialização da soja RR em 1994, tem mostrado que essa proteína não apresentou risco significativo ao meio ambiente, nem a saúde humana e animal.

### III. Descrição do OGM e Proteínas Expressas

O gene *cp4 epsps*, que codifica uma forma tolerante ao glifosato da enzima 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) foi isolado da bactéria *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4 e inserido no genoma do milho através do método de biobalística (aceleração de partículas). O modo de ação do glifosato, causando a morte de plantas, acontece devido a sua capacidade de bloquear a atividade da enzima alvo (EPSPS) pertencente à via biossintética dos aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina e triptofano. Assim, as células de plantas que expressam a proteína CP4 EPSPS continuam produzindo os aminoácidos aromáticos essenciais ao seu metabolismo mesmo na presença do glifosato. A proteína CP4 EPSPS é uma das muitas proteínas EPSPS encontradas na natureza, as quais são produzidas por plantas, bactérias e fungos, mas não por animais, uma vez que eles não possuem a via metabólica para a sua síntese. Portanto, diferentes versões da proteína EPSPS estão normalmente presentes em todos os alimentos derivados de plantas e de microorganismos. O organismo doador do gene, *A. tumefaciens* cepa CP4 é uma bactéria comumente encontrada no solo que causa galhas em plantas suscetíveis e não há nenhuma evidência científica que indique que possa causar efeitos adversos em seres humanos ou em animais.

O milho NK603 foi produzido através da transformação genética da linhagem de milho LH82XB73, usando um fragmento linearizado de ADN de 6706 pares de bases (pb) que continha dois cassetes adjacentes do gene *cp4 epsps* para expressão da proteína CP4 EPSPS. Cada um dos cassetes, denominados cassete proximal (mais próximo da extremidade 5´) e distal (mais próximo da extremidade 3´), continha uma única cópia do gene *cp4 epsps* e suas seqüências reguladoras.

Nos dois cassetes, as seqüências dos genes *cp4 epsps* foram ligadas a seqüências do polipeptídio de trânsito para o cloroplasto (CTP2) obtidas do gene *epsps* de *Arabidopsis thaliana*. A função dos polipeptídios de trânsito é transportar a proteína CP4 EPSPS para os cloroplastos onde funciona a via metabólica responsável pela síntese dos aminoácidos aromáticos. Os CTPs são removidos da proteína CP4 EPSPS após sua entrega no cloroplasto. No cassete proximal, o fragmento *ctp2-epsps* foi colocado sob o controle do promotor de arroz *actin1* e seu íntron e no cassete distal foi colocado sob o controle do promotor CaMV 35S modificado (*e35S*). No cassete distal, entre o promotor *e35S* e a seqüência CTP2, foi também introduzido um íntron de 0,8 kb de uma proteína de milho, envolvida em respostas a choques térmicos (*hsp70*) com o objetivo de aumentar os níveis de transcrição gênica. Nos dois cassetes as seqüências *cp4 epsps* foram ligadas à seqüência de 0,3 kb da nopalina sintase 3` (não traduzida) chamada NOS 3`, com a função de fornecer o sinal para poliadenilação do ARN mensageiro (mARN). O fragmento de ADN de 6706 pb usado na transformação genética foi isolado do plasmídeo PV-ZMGT32L como um fragmento único através de digestão com a enzima de restrição MluI e separação em gel de eletroforese. Portanto, não continha outros elementos plasmidiais como origem de replicação do plasmídeo e a seqüência do gene *npt II* que codifica a enzima neomicina fosfotransferase tipo II. Essa enzima confere resistência a antibióticos aminoglicosídicos como canamicina e neomicina, a qual foi usada para a seleção de bactérias durante a construção e multiplicação do plasmídeo. As células transformadas foram selecionadas em cultura de tecidos na presença de glifosato.

O fragmento de ADN incorporado foi caracterizado usando análises de *Southern Blot*, técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e sequenciamento do fragmento inserido e de suas regiões flangeadoras no genoma do milho transformado. Os resultados das análises mostraram que o genoma do milho NK603 contém uma única inserção de ADN exógeno e que nenhum ADN da estrutura de replicação do plasmídeo foi detectado no genoma do milho NK603. Dentro do inserto único foi constatada uma copia completa do fragmento de ADN de 6706 pb utilizado na transformação e mais um fragmento de 217 pb da região do promotor da actina o qual não contém os elementos necessários para atuar como promotor. Os cassetes proximal e distal do gene *cp4 epsps* estão presentes no inserto único com seus componentes genéticos intactos. No cassete distal, a seqüência de nucleotídeos do gene *cp4 epsps* difere da seqüência original utilizada no processo de transformação em dois nucleotídeos. Uma das trocas de nucleotídeos foi silenciosa e a outra resultou na substituição de um aminoácido na posição 214. O nucleotídeo alterado na posição 214 pb resultou na codificação de uma leucina no lugar de uma prolina. A nova seqüência passou então a ser designada como *cp4 epsps* L214p. Análises de produtos de PCR do terminal 3´ do ADN inserido revelou a co-integração de um fragmento adicional de ADN de 305 pb de ADN de cloroplasto. Resultados de análises de bioinformática mostraram que o ADN co-integrado corresponde a uma porção das seqüências de ADN que codificam a subunidade alfa de ARN



polimerase e a proteína ribossomal S11. Acredita-se que a fonte deste ADN é o cloroplasto da célula transformada.

As proteínas CP4 EPSPS e CP4 EPSPS L214P estão presentes em pequenas concentrações nos grãos e na forragem do milho NK603 uma vez que os promotores da actina do arroz e o *e35S* atuam de forma constitutiva. Estudos mostraram haver equivalência das mesmas com proteínas produzidas em *Escherichia coli* contendo plasmídeos de expressão heteróloga e que possuem homologia com as proteínas EPSPS produzidas naturalmente por plantas e microorganismos utilizados na alimentação humana e animal. A segurança nutricional e ambiental, tanto das proteínas EPSPS naturalmente presentes em plantas e microorganismos não transgênicos, quanto às proteínas CP4 EPSPS expressas nas culturas geneticamente modificadas tolerantes ao glifosato, pertencem a uma família de proteínas conhecidas por não apresentarem toxicidade, não estarem associadas a eventos de patogenicidade e não conferirem vantagem seletiva às plantas ou aos microorganismos que as contêm. Embora as seqüências primárias de aminoácidos nos diferentes membros da família das proteínas EPSPS apresentem uma divergência considerável, as proteínas expressas são altamente relacionadas em termos de estrutura e função.

#### IV. Aspectos relacionados à Saúde Humana e Animal

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 notadamente: (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, finalmente; (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.

As modificações do milho NK603 foram realizadas através da introdução do gene *cp4 epsps* que confere tolerância à presença do herbicida glifosato na fase pós-emergência da planta. O gene engenheirado da enzima EPSP-sintase é a transformação mais estudada em vegetais, sobretudo em soja e milho, com vasta bibliografia técnico-científica abordando diversos aspectos decorrentes dessa transformação.

O organismo doador do gene *cp4 epsps* foi a bactéria de solo *Agrobacterium* sp. cepa CP4. Esse organismo doador do gene inserido no milho NK603 não é usado na produção de alimento ou usado como alimento, seja *in natura* ou processado. Além disso, as espécies de *Agrobacterium* não são patogênicas aos seres humanos ou animais e não há relatos que o gene *epsps* seja um determinante da patogenicidade associada com *Agrobacterium* em plantas.

As proteínas EPSPS catalisam a conversão de ácido shiquímico em 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato, que é um intermediário na síntese de aminoácidos aromáticos e compostos fenólicos. Devido à sua função, as EPSPS são essenciais ao crescimento normal de plantas e microrganismos. Não existe toxicidade associada a essa família de proteínas que apresenta um longo histórico de segurança ambiental e alimentar. Além disso, as proteínas EPSPS não são conhecidas por persistirem no ambiente ou por afetarem o fenótipo do organismo hospedeiro com propriedades negativas, como patogenicidade ou potencial de desenvolvimento em plantas daninhas.

Diversos pesquisadores caracterizaram amplamente a proteína CP4 EPSPS e os resultados demonstraram que essa proteína possui propriedades enzimáticas equivalentes às proteínas EPSPS endógenas de plantas e microrganismos<sup>(14)</sup>. Adicionalmente, estudos detalhados demonstraram que a CP4 EPSPS é suscetível à proteólise e digestão enzimática, como seria esperado para as proteínas EPSPS. Além disso, há dados disponíveis, gerados nos estudos de toxicidade oral aguda, digestibilidade *in vitro* e comparação de bioinformática da CP4 EPSPS que confirmam sua equivalência com as proteínas EPSPS.

Testes de toxicidade foram realizados com a enzima EPSP-sintase isolada de vegetais transformados. Harrison e colaboradores<sup>(14)</sup> demonstraram através de ingestão por gavagem gástrica que doses da molécula proteica superiores em até 1000 vezes às encontradas em sementes modificadas não causaram qualquer alteração fisiológica nos animais ensaiados. Resultados da proteólise *in vitro* também comprovaram a rápida digestão e a inocuidade da proteína engenheirada, afastando eventuais suspeitas de alergenicidade<sup>(14)</sup>.

Além do histórico de uso seguro da classe de proteínas EPSPS e do milho, foram realizados estudos que confirmam a segurança das proteínas CP4 EPSPS expressas em culturas como a soja, o algodão, o milho, a canola e a beterraba. Em um estudo de toxicidade oral aguda, a CP4 EPSPS foi administrada em camundongos, na forma de dose única elevada, para confirmação de sua segurança<sup>(14)</sup>. Os resultados deste estudo demonstraram, conforme esperado, que a proteína CP4 EPSPS não é tóxica.

A proteína CP4 EPSPS foi produzida e purificada a partir de *E.coli*, foi caracterizada e demonstrou ser equivalente à CP4 EPSPS produzida no milho. Essa proteína purificada foi administrada oralmente a camundongos para avaliação de sua toxicidade aguda. A administração aguda foi considerada apropriada para a avaliação da segurança da CP4 EPSPS, uma vez que as proteínas tóxicas atuam por meio de mecanismos agudos<sup>(23,18)</sup>. O nível sem efeito observado



(NOEL) para a toxicidade oral em camundongos foi de 572 mg/kg, a dose mais elevada testada <sup>(12)</sup>. Este resultado representou uma margem de segurança de aproximadamente 260.000 vezes, com base no consumo médio diário de milho nos Estados Unidos e na expressão média de proteína no grão de milho geneticamente modificado tolerante ao glifosato (assumindo que não há perda de CP4 EPSPS durante o processamento). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no peso corporal, no peso corporal cumulativo ou no consumo de alimentos entre os grupos controle (com o veículo ou soro de albumina bovina) e grupos tratados com a proteína CP4 EPSPS purificada. Esse resultado era esperado, uma vez que a maioria das proteínas EPSPS não é tóxica. A proteína CP4 EPSPS demonstrou ser rapidamente digerida nos fluidos gástrico e intestinal *in vitro*. Além disso, proteínas EPSPS que possuem um histórico de uso seguro, já que estão amplamente presentes na dieta.

Vacas leiteiras foram alimentadas com forragem e grãos de milho geneticamente modificado tolerante ao glifosato, avaliando-se a produção e a composição de leite em relação àquelas que receberam a planta convencional <sup>(15)</sup>. Os resultados do experimento indicam que não houve diferenças significativas provenientes das fontes de alimentação, tanto na composição quanto no rendimento do leite produzido pelos animais.

Ovelhas alimentadas com canola também tolerante ao glifosato foram objeto de avaliação de digestibilidade e tempo de permanência do ADN recombinante no trato gastro-intestinal. O gene *cp4 epsps* e seus fragmentos foram monitorados por PCR em tempo real e pela amplificação convencional nos fluidos intestinais incubados a 39°C em tempos que variaram de zero a 240 minutos. Os resultados mostraram que os genes presentes em rações permanecem íntegros por um período relativamente curto, diminuindo a probabilidade de sua absorção pelo animal, e indicam também que os microrganismos intestinais são os responsáveis pela rápida degradação do ADN a pH 7 <sup>(2)</sup>.

Um estudo de longa duração foi realizado em salmões com dietas elaboradas com soja e milho modificados com o gene *cp4 epsps* <sup>(22)</sup>. Ao final dos ensaios, os autores comprovaram que não houve alterações significativas no desenvolvimento corporal e nos tecidos do cécum pilórico e do intestino médio dos peixes ao longo dos 8 meses experimentais.

As proteínas CP4 EPSPS são ubíquas na natureza e estão naturalmente presentes em alimentos derivados de fontes vegetais e microbianas. As proteínas não apresentam homologia significativa de aminoácidos com proteínas conhecidas como tóxicas ou alergênicas a mamíferos. Além disso, a proteína CP4 EPSPS demonstrou ser rapidamente digerida nos fluidos gástrico e intestinal *in vitro*. Além disso, proteínas EPSPS possuem um histórico de uso seguro, já estando amplamente presentes na dieta.

Testes de alergenicidade comparativa entre pacientes sensibilizados foram realizados com soja e milho convencionais, geneticamente modificados e com as respectivas proteínas heterólogas

isoladas <sup>(5)</sup>. Os produtos testados mostraram-se seguros quanto ao potencial alergênico, pois não houve variação nos níveis de reatividade frente aos grãos modificados e as proteínas isoladas não provocaram reação em indivíduos sensibilizados.

O milho não está no grupo de oito alimentos (leite, trigo, ovos, peixes, crustáceos, amendoim, soja e nozes) que respondem por aproximadamente 90% das alergias em humanos. A alergia ao milho pode ocorrer pela ingestão dos grãos ou de seus derivados e através da inalação da sua farinha e de seu pólen. O milho tem um longo histórico de uso na alimentação humana e animal com raros casos de agravos a saúde. Segundo Metcalfe (2003), os casos de alergia relatados nesta espécie vegetal não são muito comuns, mas estudos recentes mostram que os métodos diagnósticos antigos podem ter subestimado estas ocorrências <sup>(21)</sup>.

Diversos trabalhos científicos muito consistentes comprovam que o valor nutricional do Milho NK603 ou Milho Roundup Ready é, na média, igual ao do milho convencional. Citamos “na média”, pois ambos os milhos apresentam variação (desvios em relação à média), sendo que também esta variação foi demonstrada ser semelhante. Em função de características específicas do processo de produção do milho NK603, é possível prever que, quando produzido em algumas condições agrônomicas específicas (e.g. alta competição com plantas invasoras), o valor nutricional do grão derivado do OGM referido tem potencial de ser, na realidade, superior ao do grão tradicional.

## 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 chances de fecundação cruzada entre híbridos e linhagens de milho não geneticamente modificadas e entre plantas do evento NK603 e outras plantas de milho são as mesmas.

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. Não há, portanto, qualquer possibilidade de que o milho se transforme numa planta invasora ou daninha.

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 de dispersão de sementes de seus ancestrais e o movimento de pólen é o único meio efetivo de escape de genes de plantas de milho.

Estudos sobre dispersão de pólen de milho têm sido conduzidos, sendo que alguns deles mostram que o pólen de milho pode deslocar a longas distâncias. Porém, a maioria do pólen liberado é depositada próximo à cultura, com taxa de translocação muito baixa fora da cultura fonte. 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 *et al.* <sup>(19)</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 despendimento. 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.

Sob ventos baixos a moderados, estimou-se que, comparando-se as concentrações a 1 m da cultura fonte, 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 semente de milho são observadas, espera-se que a transferência de pólen às variedades adjacentes seja minimizada, não devendo conter quaisquer materiais genéticos com tolerância ao herbicida. Mesmo na eventualidade de haver um escape gênico, a probabilidade de fixação do alelo contendo a seqüência gênica que confere tolerância ao glifosato na população é muito reduzida na ausência de pressão de seleção.

O milho cultivado é conhecido por interagir com diversos organismos no meio ambiente, incluindo microrganismos, animais silvestres e invertebrados de solo e parte aérea. Além disso, o milho é conhecido por sua suscetibilidade a vários fungos, vírus, bactérias, nematóides, pragas causadas por insetos e ácaros, uso pesticidas ou outras práticas agrícolas, como rotação de culturas e utilização de genótipos resistentes ou tolerantes desenvolvidos pelo melhoramento clássico. As interações da cultura do milho com os vertebrados selvagens ocorrem em grande número e são bem conhecidas, pois o milho é uma excelente fonte de nutrição. Tais interações ocorrem com aves e mamíferos que residem ou encontram abrigo ou no ambiente agrícola ou próximo a ele, em suas fronteiras, arbustos ou tocas. O milho NK603 demonstrou ser equivalente ao milho convencional, com exceção da característica de tolerância ao glifosato. Suas interações básicas com outros organismos no ambiente não são consideradas diferentes das interações do milho convencional. Embora haja o potencial de exposição de plantas daninhas, pragas e patógenos da cultura do milho às proteínas CP4 EPSPS e CP4 EPSPS L214P que são expressas no milho NK603, não existem preocupações de que tal processo venha causar efeitos negativos sobre tais populações. Por meio de transferência trófica e de processo de decomposição, os organismos não-alvo das proteínas CP4 EPSPS e CP4EPSPS L214P, como predadores e presas das pragas do milho, poderão ser expostos a

níveis muito baixos destas proteínas sem, no entanto, haver evidências de efeitos negativos sobre esses organismos.

A segurança ambiental da família de proteínas EPSPS é bem aceita, pois essas proteínas são ubíquas na natureza (bactérias, fungos, algas e plantas superiores), não possuem toxicidade conhecida, não têm associação com patogenicidade e não conferem vantagem seletiva às plantas que contêm essas proteínas. Embora as proteínas EPSPS sejam encontradas em plantas e microorganismos, as seqüências primárias de aminoácidos apresentam divergência considerável. Análises dos alinhamentos utilizando peptídeos (ALLPEPTIDES) revelaram que os membros da família de proteínas EPSPS podem ter em comum menos de 25% de identidade em uma janela de aproximadamente 450 aminoácidos (que corresponde ao tamanho da CP4 EPSPS total). Apesar desse baixo nível de identidade de seqüências de aminoácidos, as proteínas da família EPSPS são altamente relacionadas em termos de estrutura e função <sup>(12)</sup>.

A enzima EPSPS não possui um organismo-alvo, uma vez que é uma enzima envolvida na via bioquímica do ácido shiquímico em plantas e microorganismos. Qualquer organismo não-alvo que interage com uma cultura vegetal apresenta uma interação íntima com inúmeras plantas e microorganismos e, portanto, é constantemente exposto às proteínas da família EPSPS. Com base no histórico de ocorrência dessa família de proteínas e exposição segura, não há evidências que qualquer proteína EPSPS apresentará atividade biológica sobre organismo não-alvo.

## 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*".

Pareceres técnicos referentes à performance agrônômica concluíram que há equivalência entre plantas transgênicas e convencionais. Assim, as informações indicam que as plantas transgênicas não diferem fundamentalmente dos genótipos de milho não transformado, à exceção da tolerância ao glifosato. Adicionalmente, não há evidência de reações adversas ao uso do milho NK603. Por essa razão, não existem restrições ao uso deste milho ou de seus derivados seja para alimentação humana ou de animais.

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 milho é possível do ponto de vista agrônomo (6, 20).

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 milho 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 NK603 é tão seguro quanto às 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:

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 inter cruzar, 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. Existem sólidos conhecimentos sobre a segurança do uso de milho na cadeia alimentar humana e animal.
4. O evento de transformação em questão não modificou a composição nem o valor nutricional do milho.
5. Não existe evidência de que o transgene ou o evento de transformação cause efeitos adversos a saúde humana e animal.
6. O histórico do uso do Milho NK603 na União Européia (desde 1999), nos EUA (desde 2000) e no Canadá (desde 2001), além dos dados dos testes de campo realizados no Brasil (desde 2000) fornecem evidências de que os grãos e os produtos derivados do Milho NK603 Tolerante ao Glifosato são tão seguros quanto o milho convencional.
7. Há evidências científicas sólidas de que o milho NK 603 não apresenta efeitos adversos à saúde humana e animal sendo que estas afirmações estão fundamentadas em dados da literatura científica internacional.

8. Em 2003, a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) avaliou a solicitação de liberação comercial do milho NK603 e emitiu uma opinião científica positiva em 4 de Dezembro de 2003 concluindo que “o milho NK603 é tão seguro como o milho convencional e, portanto, a comercialização de NK603 para processamento ou uso em alimentos e rações é improvável que tenha efeito adverso sobre a saúde humana ou animal ou, nesse contexto, sobre o meio ambiente.”
9. Em função dos dados detalhados apresentados pela empresa solicitante, dos resultados obtidos em ensaios de controle e segurança do organismo geneticamente modificado em questão, dos elementos creditados aos autores de trabalhos científicos citados e da inexistência de fatos contrários à segurança nutricional, toxicológica e alergênica, por mais que tenham sido investigados, somos favoráveis à liberação do milho NK603 para o consumo na cadeia alimentícia de humanos e animais.
10. O milho é uma planta incapaz de sobreviver em condições naturais, quando não assistida tecnicamente. Não há, portanto, qualquer possibilidade de que o milho se transforme numa planta invasora ou daninha.
11. A segurança ambiental da família de proteínas EPSPS é bem aceita, pois essas proteínas são ubíquas na natureza (bactérias, fungos, algas e plantas superiores), não possuem toxicidade conhecida, não têm associação com patogenicidade e não conferem vantagem seletiva às plantas que contêm essas proteínas.
12. Na eventualidade de haver um escape gênico, a probabilidade de fixação do alelo contendo a seqüência gênica que confere tolerância ao glifosato na população é muito reduzida na ausência de pressão de seleção.
13. As interações básicas do milho NK603 com outros organismos no ambiente não são consideradas diferentes das interações do milho convencional.
14. Organismos não-alvo das proteínas CP4 EPSPS e CP4EPSPS L214P, como predadores e presas das pragas do milho, poderão ser expostos a níveis muito baixos destas proteínas sem, no entanto, haver evidências de efeitos negativos sobre esses organismos.
15. Não há evidências que qualquer proteína EPSPS apresentará atividade biológica sobre organismo não-alvo.

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 Roundup Ready, derivado da linhagem NK603, é tão seguro quanto seu equivalente convencional. Foram também considerados e consultados estudos e publicações científicas independentes da requerente, realizados por terceiros.



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 Resolução Normativa nº 03 e 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. Referências Bibliográficas citadas

1. AGBIOS. GM Database. 2008. Biotech Crop Database. Maize MON NK603. <http://www.agbios.com>
2. ALEXANDER, T.W.; SHARMA, R.; DENG, M.Y.; WHETSELL, A.J.; JENNINGS, J.C.; WANG, Y.; OKINE, E. DAMGAARD, D.; McALLISTER, T.A. 2004. Use of quantitative real-time and conventional PCR to assess the stability of the *cp4 epsps* transgene from Roundup Ready® canola in the intestinal, ruminal, and fecal contents of sheep. *J. Biotechnol.* 112: 255-266.
3. ARONSON, A.I. 2000. Incorporation of protease k into larval insect membrane vesicles does not result in disruption of integrity or function of the pore-forming *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin. *Appl. Environ. Biol.* 66: 4568-4570.
4. 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.
5. BATISTA, R.; NUNES, B.; CARMO, M.; CARDOSO, C.; JOSÉ, H.; DE ALMEIDA, A.; MANIQUE, A.; BENTO, L.; RICARDO, C.; OLIVEIRA, M. 2005. Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *J. Allergy Clin. Immunol.* 116: 403-10,2005.
6. 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))
7. CARPENTER, J.; FELSOT, A.; GOODE, T.; HAMMING, M; ONSTAD, D. E SANKULA, S. 2002. Comparative environmental impacts of biotechnology-derived and traditional soybean, corn and cotton crops. Council for Agricultural and Science Technology Report, Ames, Iowa. 200p. Disponível em: [www.cast-science.org](http://www.cast-science.org). Sponsored by the United Soybean Board. [www.unitedsoybean.org](http://www.unitedsoybean.org). (Anexo 1-2)
8. CONAB. Milho total (1ª e 2ª safra) Brasil - Série histórica de área plantada - safra 1976-77 a 2006-07. Disponível em <http://www.conab.gov.br/download/safra/MilhoTotalSerieHist.xls>
9. FAO/WHO – Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organisation. 2000. Grassland Index. *Zea mays* L. (<http://www.fao.org/WAICENT/faoinfo/agricult/agp/agpc/doc/gbase/data/pf000342.htm>)

10. FAO. 2007. FAOSTAT. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx>.
11. FAOSTAT-Agriculture- Food And Agriculture Organization Of The United Nations – Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx>. Hain R & Schreier PH (1996) Genetic engineering in crop protection: opportunities, risks
12. FUCHS, R.L. 1998. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered plants: glyphosate tolerant soybean as a case study. In: EISENBRAND, G.; AULEPP, H.; DAYAN, A.D.; ELIAS, P.S.; GRUNOW, W.; RING, J.; SCHLATTER, J.; Köhl, W.; BAUM, M. (Eds.) Food Allergies and Intolerances Symposium. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH, 17: 212-221.
13. GIANESSI, L.; SILVERS, C.; SANKULA, S E CARPENTER, J. 2002. Executive Summary –Plant Biotechnology – Current and Pontential Impact for Improving Pest Management in US Agriculture. An Analysis OF 40 Case Studies. NCFAP. National Center for Food and Agricultural Policy: 1-23. Disponível em: <http://www.ncfap.org/40CaseStudies.htm>
14. HARRISON, L.A.; BAILEY, M.R.; NAYLOR, M.W.; REAM, J.E.; HAMMOND, B.G.; NIDA, G.L.; BURNETTE, B.L.; NICKSON, T.E.; MITSKY, T.A.; TAYLOR, M.L.; FUCHS, R.L.; PADGETTE, S.R. 1996. The expressed protein in glyphosate synthase from *Agrobacterium* sp. Strain CP4, is rapidly digested *in vitro* and is not toxic to acutely gavaged mice. *J. Nutr.*126: 728-740.
15. IPHARRAGUERRE, I.R.; YOUNKER, R.S.; CLARK, J.H. 2003. Performance of lactating dairy cows fed corn as whole plant silage and grain produced from a glyphosate-tolerant hybrids (event NK603). *J.Dairy Sci.* 86: 1734-1741.
16. JOHNSON, W.G.; BRADLEY, P.R.; HART, S.E.; BUESINGER, M.L. E MASSEY, R.E. 2000. Efficacy and economics of weed management in glyphosate-resistant corn (*Zea mays*). *Weed Technol.* 14: 57-65.
17. 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.
18. KESSLER, D.A.; TAYLOR, M.R.; MARYANSKI, J.H.; FLAMM, E.L.; KAHL, L.S. 1992. The safety of foods developed by biotechnology. *Science* 256: 1747-1749.
19. 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.
20. 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.
21. METCALFE D.D. 2003. Introduction: what are the issues in addressing the allergenic potential of genetically modified foods? *Environ. Health Perspect.* 111: 1110-1113.
22. SANDEN, M.; BERNTSSEN, M.H.G.; KROGDAHL, Å.; HEMRE, G.-I.; BAKKE-McKELLEP, A.-M. 2005. An examination of the intestinal tract of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr fed different varieties of soy and maize. *J. Fish Dis.* 28: 317-330.
23. SJOBLAD, R.D.; MCCLINTOCK, J.T.; ENGLER, R. 1992. Toxicological considerations for protein components of biological pesticide products. *Regul Toxicol Pharmacol.* 15: 3-9.
24. SPALHANET. Descontrole: Uso de Agrotóxico é o Principal Problema de Saúde dos Agricultores. 2006. Ano XII nº164. [www.sinpaf.org.br](http://www.sinpaf.org.br)
25. THARP, B.E.; KELLS, J.J. 1999. Influence of herbicide application rate, timing, and interrow cultivation on weed control and corn (*Zea mays*). Yield in glufosinate-resistance and glyphosate-resistant corn. *Weed Technol.* 13: 807-813.

## X. Referências Bibliográficas consultadas

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. AUMAITRE, A.; AULRICH, K.; CHESSON, A.; FLACHOWSKY, G.; PIVA, G. 2002. New feeds from genetically modified plants: substantial equivalence, nutritional equivalence, digestibility, and safety for animals and the food chain. *Livestock Prod. Sci.* 74: 223-238.
3. BENBROOCK, C. 2003. Impacts of genetically engineered crops on pesticide use in the United States: The first eight years. *Biotech Infonet Paper No.6*, [www.biotech-info.net/technicalpaper6.html](http://www.biotech-info.net/technicalpaper6.html).
4. BENEDITO, V.A.; FIGUEIRA A. V. 2008. Segurança ambiental. In: *Biotecnologia e Meio Ambiente*. BOREM, A.; GIUDICE, M. DEL P. p. 167-198.
5. BOREM, A. 2001. Escape gênico & transgênicos. Viçosa, UFV 206 p.
6. BRINGOLF, R.B.; COPE, W.G.; MOSHER, S.; BARNHART, M.C.; SHEA, D. 2007. Acute and chronic toxicity of glyphosate compounds to glochidia and juveniles of *Lampsilis siliquoidea* (Unionidae). *Environ. Toxicol. Chem.* 26: 2094-100.
7. BROOKES, G. et al. 2004. GM Maize – Pollen Movement and Crop Co-existence. Dorchester, UK: PG Economics Ltd. <http://www.pgeconomics.co.uk>
8. BROOKES, G.; BARFOOT, P. 2006. Global Impact of Biotech Crops: Socio-Economic and Environmental Effects in the First Ten Years of Commercial Use. *AgBioForum*. 9: 139-151.
9. CHRENKOVA, M.; SOMMER, A.; CERESNAKOVA, Z.; NITRAYOVA, S.; PROSTREDNA, M. 2002. Nutritional evaluation of genetically modified maize corn performed on rats. *Archives of Animal Nutrition - Archiv Fur Tierernahrung* 56: 229-235.
10. CODEX ALIMENTARIUS. 2003. Guideline for the conduct of Food safety assessment of food derived from recombinant-DNA plants. The Codex Alimentarius Commission and the FAO/WHO Food Standards Programme. Rome. CAC/GL 45-2003. [ftp://ftp.fao.org/es/esu/food\\_guide\\_plants\\_en.pdf](http://ftp.fao.org/es/esu/food_guide_plants_en.pdf)
11. COE JR., E.H. 2001. The origin of maize genetics. *Nature Rev. Genetics* 2: 898-906.
12. CONNER, A.; GLARE, T.E.; NAP, J-P. 2003. The release of genetically modified crops into the environment. Part II – Overview of ecological risk assessment. *The Plant J.* 33: 19-46.
13. DEMANÈCHE, S.; SANGUIN, H.; POTÉ, J.; NAVARRO, E.; BERNILLON, D.; MAVINGUI, P.; WILDI, W.; VOGEL, T.M.; SIMONET, P. 2008. Antibiotic-resistant soil bacteria in transgenic plant fields. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105: 3957-3962.
14. DOMINGO, J.L. 2000. Health Risks of GM Foods.: Many opinions but few data. *Science* 288: 1748-1749.
15. EASTHAM, K.; SWEET, J. 2002. Genetically modified organisms (GMO): the significance of gene flow through pollen transfer. Copenhagen: European Environmental Agency.
16. DONKIN, S.S.; VELEZ, J.C.; TOTTEN, A.K.; *et al.* 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.
17. DOUVILLEA, M.; GAGNÉ, F.; ANDRÉA, C.; BLAISEA, C. 2008. Occurrence of the transgenic corn *cry1Ab* gene in freshwater mussels (*Elliptio complanata*) near corn fields: Evidence of exposure by bacterial ingestion. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* (in press).
18. EMBERLIN, J. 1999. The dispersal of maize pollen *Zea mays*: A report based on evidence available from publications and internet sites. National Pollen Research Unit, University College, Worcester WR2 AJ, United Kingdom.

19. ERICKSON G.E.; ROBBINS, N.D.; SIMON, J.J.; *et al.* Effect of feeding glyphosate-tolerant (Roundup-Ready events GA21 or NK603) corn compared with reference hybrids on feedlot steer performance and carcass characteristics. *J. An. Sci.* 81: 2600-2608.
20. EUROPEAN COMMISSION. 2006. Technical Report EUR 22102 EM. New Case Studies on the Coexistence of GM and Non-GM Crops in European Agriculture. <http://www.jrc.es/home/pages/eur22102enfinal.pdf>
21. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). 2006. Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. *EFSA J.* 99:1-100.
22. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2004. The State of Food and Agriculture. Agriculture Biotechnology. Meeting the Needs of the Poor. Rome, 208pp. <http://www.fao.org>
23. FOOD SAFETY AND GMOS. 2004. Consensus Document. 10pp. <http://www.cedab.it>
24. 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.
25. GARCIA, M. A.; ALTIERI, M. A. 2005. Transgenic crops: implications for biodiversity and sustainable agriculture. *Bull. Sci. Technol. & Soc.* 25: 335-353.
26. GELMINI, G.A; VICTORIA FILHO, R.; NOVO, M.C.S.S.; ADORYAN, M.L. 2005. Resistência de *Euphorbia heterophylla* L. aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja. *Sci. Agric.* 62: 452-457.
27. GERTZ JR., J.M.; VENCIL, W.K.; HILL, N.S. 1999. Tolerance of transgenic soybean (*Glycine max*) to heat stress. In: Proceedings of the 1999 Brighton Conference Weeds (The BCPC Conference). Vol. 3.; November 1999; Brighton, UK, p. 835-840.
28. GIESY, J.P.; DODSON, S.; SOLOMON, K.R. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 167: 35-120.
29. GIULIETTI, A.M.; HARLEY, R.M; QUEIROZ, L.P.; WANDERLEY, M.G.L.; VAN DEN BERG, C. 2005 Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. *Megadiv.* 1: 52-61.
30. GLADYSHEV, E.A.; MESELSON, M.; ARKHIPOVA, I.R. 2008. Massive horizontal gene transfer in bdelloid rotifers. *Science.* 320: 1210-1213.
31. GLIESSMAN, S.R. 2005. Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre: UFRGS. 652P.
32. HAMMOND, B.G.; VICINI, J.L.; HARTNELL, G.F.; NAYLOR, M.W.; KNIGHT, C.D.; ROBINSON, E.H.; FUCHS, R.L.; PADGETTE, S.R. 1996. The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. *J. Nutr.* 126: 717-727.
33. ICOZ, I.; SAXENA, D.; ANDOW, D.A.; ZWAHLEN, C.; STOTZKY, G. 2008. Microbial populations and enzyme activities in soil in situ under transgenic corn expressing cry proteins from *Bacillus thuringiensis*. *J. Environ. Qual.* 37: 647-62.
34. JAMES, C. 2006. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. ISAAA Brief 35. ISAAA: Ithaca, NY. Website: <http://www.isaaa.org>
35. KAY, R.; CHAN, A.; DALY, MCPHERSON, J. 1985. Duplication of CaMV 35S promoter sequences creates a strong enhancer for plant genes. *Science* 236: 1299-1302.
36. KINUPP, V.; BARROS, I.B.I. 2004. Levantamento de dados e divulgação do potencial das plantas alimentícias alternativas no Brasil. *Horticultura brasileira* V.4.

37. KINUPP, V. 2007. Plantas alimentícias não convencionais na Região Metropolitana de Porto Alegre. Programa de Pós-Graduação em fitotecnia – Faculdade de Agronomia – UFRGS. 590p.
38. KLEE, H.J.; MUSKOPF, Y.M.; GASSER, C.S. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Mol Gen Genet.* 210:437-442.
39. LATHAM, J.R.; WILSON, A. K.; STEINBRECHER, R. A. 2006. The mutational consequences of plant transformation. *J. of Biomed. Biotech.* 2006: 1-7.
40. MALATESTA et. al. 2002. Ultrastructural morphometrical and immunocytochemical of hepatocytenuclei from mice fed on genetically modified soybean. *Cell structure and function.* 27: 173-180.
41. MESSEGUER, J.; PEÑAS, G.; BALLESTER, J.; BAS, M.; SERRA, J.; SALVIA, J.; PALAUDELMÁS, M.; MELÉ, E. 2006. Pollen-mediated gene flow in maize in real situations of coexistence. *Plant Biotechnology Journal.* 4:633-645.
42. MONIER J.M.; BERNILLON, D.; KAY, E.; FAUGIER, A.; RYBALKA, O.; DESSAUX, Y.; SIMONET, P.; VOGEL, T.M. 2007. Detection of potential transgenic plant DNA recipients among soil bacteria. *Environ Biosaf. Res.* 6:71-83.
43. MONQUERO, P.A; SILVA, A.C. 2007. Efeito do período de chuva no controle de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomea purpurea* pelos herbicidas glyphosate e sulfotase. *Planta Daninha* 25: 399-404.
44. MOREIRA, M.S.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. 2007. Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. *Planta Daninha.* 25: 157-164.
45. 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 Microbiol Rev.* 22: 79-103.
46. OECD. 2003. Considerations for the safety assessment of animal feedstuffs derived from genetically modified plants. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No. 9. Organization for Economical Co-operation and Development. ENV/JM/MONO ,10. 46p.
47. OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN UNION. <http://www.agbios.com/docroot/decdocs/06-286-015.pdf>
48. PADGETTE, S.R.; KOLACZ, K.H.; DELANNAY, X.; RE, D.B.; LaVALLEE, B.J.; TINIUS, C.N.; RHODES, W.K.; OTERO, Y.I.; BARRY, G.F.; EICHHOLTZ, D.A.; PESCHKE, V.M.; NIDA, D.L.; TAYLOR, N.B.; KISHORE, G.M. 1995. Development, identification and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Sci.* 35: 1451-1461.
49. PADGETTE, S.R.; TAYLOR, N.B.; NIDA, D.L.; BAILEY, M.R.; MacDONALD, J.; HOLDEN, L.R.; FUCHS, R.L. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *J. Nutr.* 126: 702-716.
50. PONTIROLI, A.; SIMONET, P.; FROSTEGARD, A.; VOGEL, T.M.; MONIER J.M. 2007. Fate of transgenic plant DNA in the environment. *Environ. Biosaf. Res.* 6: 15-35.
51. PRAY, C. E.; HUANG, J. 2003. The Impact of Bt Cotton in China. In: Economic and Environmental Impacts of Agbiotech: A Global Perspective. KALAITZANDONAKES, N. (Ed). New York: Kluwer-Plenum Academic Publisher.
52. RAPOPORT, E. H.; LADIO, A.; RAFFAELE, E.; GHERMANDI, L.; SANZ, E.H. 1998. Malezas Comestibles. *Hay yuyos y yuyos. Ciencia Hoy,* v.9. n.49.
53. RAPOPORT, E.H.; DRAUSAL, B. S. 2001. Edible plants. In: Encyclopedia of biodiversity. LEVIN, S. (ed). New York: Academic Press, 375-382.
54. SABHARWAL, N.; ICOZ, I., SAXENA, D.; STOTZKY, G. 2007. Release of the recombinant proteins, human serum albumin, beta-glucuronidase, glycoprotein B from human



- cytomegalovirus, and green fluorescent protein, in root exudates from transgenic tobacco and their effects on microbes and enzymatic activities in soil. *Plant Physiol Biochem.* 45: 464-469.
55. SAXENA, D.; FLORES, S.; STOTZKY, G. 1999. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. *Nature* 402: 480.
56. SHAN, G.; EMBREY, S.K.; HERMAN, R.A.; MCCORMICK, R. 2008. Cry1F protein not detected in soil after three years of transgenic Bt corn (1507 corn) use. *Environ Entomol.* 37: 255-62.
57. SHEWRY, P. R.; *et al.* 2007. Are GM and Conventionally Bred Cereals Really Different? *Food Sci. Technol.* 18: 201-209.
58. SIQUEIRA, J.O.; TRANNIN. 2008. Agrossistemas transgênicos. In: *Biotecnologia e Meio Ambiente.* BOREM, A.; GIUDICE, M. DEL P. p. 225-309.
59. TAYLOR, M.L.; HARTNELL, G.F.; RIORDAN, S.G.; *et al.* 2004. Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from Roundup Ready (NK603), YieldGard x Roundup Ready (MON 810 x NK603), non-transgenic control, or commercial corn. *Poult. Sci.* 83: 1758-1758.
60. TAYLOR, M.L.; HARTNELL, G.; NEMETH, M.; KARUNANANDAA, K.; GEORGE, B. 2005. Comparison of broiler performance when fed diets containing corn grain with insect-protected (corn rootworm and European corn borer) and herbicide-tolerant (glyphosate) traits, control corn, or commercial reference corn—revisited. *Poult. Sci.* 84: 1893-1899.
61. NUFFIELD COUNCIL ON BIOETHICS. 2004. The use of genetically modified crops in developing countries. 122pp. <http://www.nuffieldbioethics.org>
62. TRAVIK, T.; HEINEMANN, J. 2007. Genetic Engineering and Omitted Health Research: Still No answers to ageing questions . *Third World Network*, 36p.
63. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 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. U.S. Food and Drug Administration. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/bioprgu2.html> .
64. VARGAS, L.; BIANCHI, M.A.; RIZZARDI, M.A.; AGOSTINETTO, D.; DAL MAGRO, T. *Conyza bonariensis* resistente ao glyphosate na região do sul do Brasil. *Planta Daninha* 25: 573-578.
65. VARGAS, L.; RIZZARDI, M.A.; BIANCHIM, A. 2007. Manejo e controle de espécies tolerantes ou resistentes ao glifosato. *Plantio Direto* mar/abr. 2007: p.30-33,
66. VIDAL, R.A.; TREZZI, M.M.; STACHLER J., LOUX, M. 2007. Definindo resistência aos herbicidas. *Plantio Direto* jul/ago.2007.
67. VIDAL, R.A.Q.; LAMEGO, F.P.; TREZZI, M.M. 2006. Diagnóstico da resistência aos herbicidas em plantas daninhas. *Planta Daninha* 24: 597-604.
68. WILLIAMS, G.M.; KROES, R.; MUNRO, I.C. 2000. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 31: 117-165.
69. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2005. Modern Food Biotechnology, Human Health and Development: An Evidence-Based Study. 76pp. <http://www.who.int/foodsafety>
70. YASMIN S.; D'SOUZA D. 2007. Effect of pesticides on the reproductive output of *Eisenia fetida*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79: 529-532.

Walter Colli  
Presidente da CTNBio



### Voto divergente:

O relator Dr. Paulo Brack (Subcomissão Setorial Permanente Ambiental) emitiu parecer contrário a aprovação deste produto por considerar que *in verbis*:

1. Aspectos ligados à biodiversidade são fundamentais na análise e no debate quanto à possível liberação comercial de variedades transgênicas, pois a tecnologia de plantas geneticamente modificadas não deveria fazer parte do processo usual de maior empobrecimento do estoque da riqueza da biodiversidade e da perda dos processos de resiliência e autoregulação ecológicas.
2. Pode ocorrer o aumento da resistência ao herbicida glifosato, como já acontece na soja, aumentando a invasão de plantas adventícias devido ao herbicida poder se tornar inócuo e não trazer vantagens econômicas.
3. Existem poucos estudos experimentais quanto aos efeitos ambientais desta tecnologia sobre o ambiente.
4. As análises dos custos e benefícios de OGMs deveriam estar associadas a uma avaliação mais ampla, ou sistêmica, das causas dos desajustes a que estes organismos vieram ser criados e colocados no mercado.
5. A ausência de trabalhos no Brasil com respeito ao possível efeito das plantas transgênicas sobre a alteração dinâmica de comunidades de microorganismos no solo.
6. Existem evidências que fragmentos relativamente longos de DNA de plantas GM sobrevivem por períodos extensos após a ingestão, podendo ser detectados nas fezes.
7. Existem ainda grandes lacunas de conhecimento quanto aos bio-riscos de uma planta de polinização aberta e que representa uma cultura importantíssima para o pequeno agricultor e para a alimentação humana e animal.
8. Faltam estudos que abordem a distância a que este pólen chega e a possibilidade de haver alcance do gineceu. Este aspecto até agora não foi levado em conta, inclusive não existem estudos quanto a possibilidade de presença de outros polinizadores, como as abelhas silvestres nos vários biomas brasileiros.
9. Apesar da planta apresentar a estratégia de anemofilia, pela produção abundante de pólen, nas flores estaminadas, o risco de fluxo gênico entre milho GM e não GM, por *Apis mellifera* L. pode existir.
10. No Brasil existe a possibilidade de contaminação, no que se refere ao milho GM, principalmente pela ausência de mecanismos eficientes de segregação das sementes.
11. Não existem programas para proteger o produtor de que produção de sementes ou grão de milho não sofram contaminação.
12. Uma semente de uma planta GM pode se propagar indefinidamente e, se tiver constatado problemas, não se sabe se será realizado seu recolhimento.
13. Faltam estudos detalhados da questão da estabilidade dos locais, os sítios de atual inserção, o número e a estabilidade dos insertos, os efeitos ao promotor transgênico, os padrões dos insertos e as mutações pós-modificações genéticas na proteína codificada e na seqüência de regulação dentro de condições que extrapolam os experimentos confinados a laboratórios.
14. Efeitos imprevisíveis na estabilidade genética do OGM, poderiam trazer alterações no valor nutricional, ou mesmo alergenicidade ou outro fator inconveniente sobre a saúde humana.
15. Não são verificados trabalhos conclusivos sobre aspectos toxicológicos e alergênicos por parte da empresa requerente do evento a ser analisado.

16. Aspectos ligados a diversidade do sistema deveriam fazer parte dos estudos, incluindo a possibilidade de que não exista erosão genética e perda ainda maior de biodiversidade.
17. Não houve avaliação de risco ambiental ou de estudos de impacto ambiental.
18. Inexistem estudos prévios destas plantas e suas possíveis conseqüências ambientais nos ecossistemas brasileiros.
19. Não se sabe sobre os potenciais riscos para outros organismos “não alvo” (abelhas, pássaros, microorganismos do solo em função da degradação de plantas modificadas etc.)
20. No Brasil, o Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança é pouco respeitado, principalmente no que estabelece, no seu Anexo II.
21. A prática tradicional de troca de sementes entre agricultores não pode estar sob risco de contaminação, pois não se sabe a eficiência na segregação.