



COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA
PARECER TÉCNICO Nº 110/2022/SEI-CTNBio - Membros

PARECER TÉCNICO 7891/2022

Processo: 01200.702462/2016-47

Protocolo: 28/11/2017

SEI: 8012221

Requerente: Syngenta Seeds Ltda

CQB: 001/96

Classificação do OGM: Classe de risco 1

Nível de Biossegurança: NB-1

Extratos Prévios nº 7870/2021 e 7895/2021

Assunto: liberação comercial do Milho 3272, com finalidade de cultivo, produção, manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, liberação e descarte deste OGM e seus derivados, bem como suas progênes e isenção de plano de monitoramento.

Reunião: 248a. Reunião ordinária ocorrida em 03/02/2022

Decisão: DEFERIDO

Fundamentação Técnica

O milho 3272 já se encontra aprovado no Brasil pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança para consumo humano e animal, através do Parecer Técnico nº 5.226/2016, publicado na Seção 1, do DOU nº 196, de 11 de outubro de 2016. Este milho foi desenvolvido com o objetivo de facilitar a hidrólise do amido de milho para a produção de etanol. A empresa proponente, na ocasião da aprovação para consumo humano e animal, atestou que a avaliação da segurança humana foi conduzida no milho 3272, para determinar que: 1) o milho 3272 é tão seguro quanto o milho convencional e que 2) as novas proteínas introduzidas não apresentam toxicidade e são improváveis de serem alergênicas. A CTNBio concluiu pelo deferimento do pedido da empresa Syngenta Seeds Ltda para a liberação comercial de milho 3272 e seus derivados para uso exclusivo na alimentação humana e animal incluindo as finalidades de manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, armazenamento, consumo, liberação e descarte deste milho GM e de seus derivados. Nesta oportunidade, solicita a liberação comercial para finalidade de cultivo, produção, manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, liberação e descarte deste OGM e seus derivados, bem como suas progênes.

A requerente apresentou informações adicionais às já fornecidas no processo aprovado pela CTNBio contendo as Informações Relativas ao OGM e da Avaliação de Risco à Saúde Humana e Animal, e aqui é complementado com os dados da Avaliação de Risco ao Meio Ambiente (Resolução Normativa nº 32, da CTNBio, de 01 de Junho de 2021).

Transformação genética

O Milho 3272 foi desenvolvido por meio de transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, pela inserção do gene sintético amy797E, cuja expressão produz a proteína alfa-amilase termoestável AMY797E. O gene amy797E é um gene quimérico derivado de sequências de três genes de

alfa-amilase originários de três microrganismos hipertermófilos da ordem archaea Thermococcales. Este gene quimérico de alfa-amilase foi montado a partir de sequências parentais utilizando-se a tecnologia GeneReassembly™ (Diversa Corporation, San Diego, CA) e foi selecionado pelas propriedades de termoestabilidade da proteína de amilase codificada, necessárias durante a fase de liquefação do amido no processamento dos grãos de milho, como por exemplo, na produção de etanol. O Milho 3272 contém também o gene *pmi* de *E. coli* que codifica uma fosfomanose isomerase e está sob regulação do promotor do gene da ubiquitina de *Zea mays* e do terminador NOS de *Agrobacterium tumefaciens*. Este gene atua como marcador de seleção no processo de transformação.

A sequência de nucleotídeos de toda a inserção T-DNA presente no evento 3272 foi determinada para demonstrar a integridade geral da inserção, contiguidade dos elementos funcionais e detectar quaisquer mudanças em pares de bases individuais. Os dados da sequência consensual para a inserção T-DNA do evento 3272 demonstram a integridade geral da inserção e que a contiguidade dos elementos funcionais dentro da inserção, como desejado, foi mantida. Estudos de segregação em três gerações foram realizados para o Milho 3272 e foi demonstrado que os genes estão ligados em um único locus de inserção no genoma nuclear e que segregam de acordo com a herança mendeliana. Os padrões de hibridização são idênticos em todas as gerações do Milho 3272 analisados, o que indica que o inserto é herdado de forma estável de uma geração para a seguinte.

Avaliação das proteínas expressas

Para avaliar os níveis de expressão das proteínas AMY797E e PMI no Milho 3272, foram realizados estudos em campo, e as concentrações das proteínas foram determinadas por ELISA em vários tecidos vegetais e na planta inteira em cinco estágios de crescimento (cartucho, antese, enchimento do grão, maturidade da semente e senescência) no Milho 3272 e no híbrido não geneticamente modificado, com mesmo background genético. A expressão da proteína AMY797E é dirigida pelo promotor de milho gama-zeína para expressão específica no endosperma do grão. Como esperado, níveis relativamente elevados da proteína AMY797E foram medidos em grãos do Milho 3272. Em base seca os níveis de AMY797E no Milho 3272 foram maiores na fase de enchimento do grão. Os níveis médios de AMY797E em grãos do híbrido avaliado em todas as fases variou de 838 ± 225 mg/g (peso úmido) (1004 ± 322 mg/g em peso seco) para 1627 ± 338 mg/g (peso úmido) (3365 ± 780 mg/g em peso seco). Além de grãos, os níveis da proteína AMY797E foram medidos em raízes, folhas, pólen e em plantas inteiras em cinco estágios de desenvolvimento. Níveis quantificáveis de proteína AMY797E foram detectados em algumas amostras de plantas inteiras e algumas amostras de raízes. Em plantas inteiras, nas fases de antese, enchimento do grão, maturidade do grão e senescência, a presença de uma proporção de grão nestas amostras foi responsável pela detecção da AMY797E. A proteína AMY797E foi também detectada em algumas amostras de plantas inteiras (estádios fenológicos de cartucho e antese), antes do desenvolvimento do grão e, em algumas amostras de raízes quando a planta se encontrava no estágio de cartucho, no Milho 3272. Este nível baixo de AMY797E detectado em algumas plantas inteiras no estágio cartucho, estágio de antese e em algumas raízes pode ser devido à proteína AMY797E em remanescentes da semente germinada ligados à raiz. Níveis muito baixos de AMY797E que estavam ligeiramente acima do limite de quantificação, também foram detectados nas plantas controle (plantas inteiras na fase de enchimento do grão) (0,02 e 0,1 mg/g peso úmido, 0,1 e 0,4 mg/g peso seco). A proteína AMY797E não foi detectada no pólen e foi detectada em apenas uma amostra de folhas, a partir da senescência. A expressão da proteína PMI se dá por um promotor constitutivo e foi detectada na maior parte da planta e tecidos analisados, com exceção de algumas amostras de plantas na senescência. Níveis de PMI foram geralmente semelhantes para o milho avaliado em cada ponto de tempo, para cada tipo de tecido, com os mais altos níveis sendo detectados no pólen: 8,0 - 8,5 (mg/g de peso fresco) e 17,0 - 18,2 (mg/g em peso seco)

Avaliação da segurança humana e animal.

Uma abrangente avaliação da segurança para consumo humano e animal foi conduzida no Milho 3272, para determinar se: a) o Milho 3272 é tão seguro quanto o milho convencional e b) as proteínas geneticamente modificadas expressas não apresentam toxicidade e são improváveis de serem alergênicas. Tanto o gene

amy797E quanto o gene pmi são derivados de organismos com histórico de uso seguro e as proteínas que são produzidas têm modo de ação bem conhecidas. Extensivas buscas de bioinformática foram feitas para confirmar que as sequências de aminoácidos de AMY797E e PMI não compartilham similaridade significativa com sequências proteicas identificadas como toxinas. A toxidez potencial a mamíferos de ambas as proteínas foi avaliada pela execução de estudos de toxidez oral em ratos. Nenhuma toxidez foi observada em doses muito altas (1.511 mg de proteína/kg de peso corporal para AMY797E e 2.000 mg de proteína/kg de peso corporal para PMI). Ambas as proteínas AMY797E e PMI, portanto, são consideradas atóxicas.

Uma rigorosa avaliação do potencial de alergenicidade da proteína AMY797E e da proteína PMI foi conduzida, utilizando uma abordagem de peso-da-evidência. As proteínas AMY797E e PMI não são derivadas de organismo fonte conhecido como produtor de proteínas alergênicas. Nenhuma similaridade significativa de sequência de aminoácidos de AMY797E ou PMI com sequências de proteínas alergênicas putativas ou conhecidas foi identificada. Tanto AMY797E como PMI foram rapidamente degradadas em fluido gástrico simulado de mamíferos e foram inativadas. Baseando-se nessas evidências, tanto AMY797E como PMI foram consideradas improváveis de serem alimentos alergênicos. Mais ainda, o potencial de exposição de mamíferos a essas proteínas é mínimo, devido aos seus níveis de expressão nos tecidos do milho. As proteínas introduzidas no Milho 3272 são oriundas de organismos com histórico de uso consolidado e seguro; estando bem estudadas quanto aos mecanismos de ação e ausência de atividades anti-nutricionais, tóxicas, alergênicas, que possam alterar o desempenho ou causar qualquer tipo de dano a qualquer espécie que as consumirem. A composição nutricional deste milho é equivalente a composição de variedades de milho que não foram geneticamente transformadas, exceto pela expressão das proteínas AMY797E e PMI.

Avaliação ambiental

As enzimas alfa-amilases são ubíquas, ocorrendo em todos os três domínios da vida (Bacteria, Archaea e Eukaryota, incluindo humanos). As alfa-amilases são vastamente encontradas em plantas, e são comuns em lavouras, incluindo-se o milho, no qual o amido é o principal produto de armazenamento. De forma similar, as amilases são comumente encontradas em micróbios do solo, incluindo alguns que são tolerantes ao calor. É provável, portanto, que as espécies expostas a alfa-amilase (AMY797E) através do cultivo do Milho 3272 tenham tido exposição prévia as alfa-amilases comumente encontradas na natureza. E até a presente data, nenhum efeito prejudicial de tal exposição é conhecido ou foi relatado. A degradação de diferentes resíduos das culturas é resultado das condições locais e regionais tais como, clima, tipo de solo, vegetação, fauna e microrganismos decompositores e como o Milho 3272 é equivalente substancialmente ao milho convencional (Parecer Técnico CTNBio nº 5.226/2016 - BRASIL, 2016a), podemos afirmar que as características inseridas no Milho 3272 não alteram a biodegradabilidade da planta contendo este evento, em comparação com o seu parental, não geneticamente modificado.

A requerente informa:

- a) o Milho 3272 é uma cultura muito conhecida e estudada, e não possui nenhum dos atributos geralmente associados às plantas daninhas, com amplo histórico de uso e consumo seguros;
- b) o Milho 3272 apresenta a mesma composição química de analitos analisados, com base na literatura internacional, quando comparado aos híbridos de milho convencionais cultivados comercialmente, não afetando a degradabilidade das plantas de Milho 3272 em comparação ao milho não geneticamente modificado;
- c) o Milho 3272 possui as mesmas características agronômicas do milho convencional não geneticamente modificado, assim, não se esperam alterações na capacidade de dispersão de estruturas de propagação e reprodução, capacidade de sobrevivência e estruturas de reprodução prazo; nem se esperam alteração em sua capacidade de adicionar ou remover substâncias do solo;
- d) quando de seu cultivo, o Milho 3272 não causa diferente impacto sobre organismos não alvo, comparado ao cultivo de um milho não geneticamente modificado.

Milho 3272 possui histórico de uso seguro e está aprovado para o consumo humano e animal pela CTNBio no Brasil (Parecer Técnico nº 5.226/2016, publicado na Seção 1, do DOU nº 196, em 11 de outubro de 2016 - BRASIL, 2016a), e baseando-se na Avaliação de Risco ao Meio Ambiente, apresentada no presente documento, concluiu-se que o Milho 3272 não apresenta riscos significativos sobre a saúde humana, animal ou ao meio ambiente. Qualquer dano, se houvesse, seria reduzido e com probabilidade de ocorrência desprezível, ou seja, um risco negligenciável.

Para confirmar que os híbridos de Milho 3272 são substancialmente equivalentes em características agronômicas aos híbridos não transgênicos quase isogênicos correspondentes, além das características introduzidas, o rendimento de grãos e outras medições agronômicas foram comparados em ensaios em vários locais. Os testes de avaliação agronômica foram realizados a campo em 4 localidades no Brasil, na safra 2020/21, nos municípios de Bandeirantes - SP, Palmeiras de Goiás - GO, Juazeiro - BA, e Mandirituba - PR

Foram avaliadas:

1. Características fenotípicas e agronômicas avaliadas no Milho 3272 e no milho controle
2. Análise estatística das comparações entre locais dos dados agronômicos para o Milho 3272 (teste) e milho não transgênico (controle)
3. Comparações dos dados agronômicos, entre locais, para o Milho 3272 (teste) e milho quase isogênico não transgênico (controle)

Os valores médios para cada característica agronômica avaliada se encontram dentro da faixa de variação representada pelos híbridos de referência; portanto, nenhuma das diferenças observadas entre o Milho 3272 (teste) e o milho controle (híbrido quase isogênico não transgênico) podem indicar qualquer relevância biológica.

Parecer Final

Cabe destacar que, desde 2007, o Milho 3272 foi aprovado para uso em alimentação humana em 18 países, dos quais 13 também aprovaram para uso em alimentação animal. O cultivo do Milho 3272, objeto do presente requerimento, foi aprovado por três países: Canadá (2008), Japão (2010) e Estados Unidos (2008), não tendo sido reportado qualquer efeito adverso.

Este evento foi aprovado pela CTNBio para consumo humano e animal através do Parecer Técnico nº 5.226/2016, publicado na Seção 1, do DOU nº 196, em 11 de outubro de 2016.

Com base na Resolução Normativa nº 32, da CTNBio, de 15 de Junho de 2021, e que os resultados encontrados suportam que são substancialmente equivalentes ao milho convencional, a CIBio da Syngenta Seeds Ltda. considerou que o cultivo, comercialização ou uso na alimentação humana e animal não são atividades que sejam potencialmente causadoras de significativa degradação do meio ambiente ou causem agravos à saúde humana e animal, e identificou apenas riscos negligenciáveis, relacionados à biossegurança do OGM e por este motivo solicita a isenção de monitoramento pós-liberação comercial.

Em seu Art. 18, parágrafo primeiro a RN32 reiterou a isenção de Plano de Monitoramento Pós-Liberação comercial para OGMs de classe de risco 01, quando a avaliação de risco realizada pela CIBio e retificada pela CTNBio não identificar risco não negligenciável.

Diante do exposto e considerando os critérios contidos na Resolução Normativa 32 da CTNBio, é possível concluir que a presente proposta de isenção de plano de monitoramento atende ao disposto nesta resolução.

No âmbito das competências do Art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que a liberação comercial para plantio do milho geneticamente modificado 3272, atende às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal. Assim, atendidas as condições descritas no processo e neste parecer técnico, essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou danos à saúde humana ou animal.

Data: 03/02/2022

Paulo Augusto V. Barroso
Presidente da CTNBio



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Augusto Vianna Barroso, Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança**, em 04/02/2022, às 01:19 (horário oficial de Brasília), com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <http://sei.mctic.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador **9374711** e o código CRC **194BF067**.

Referência: Processo nº 01200.702462/2016-47

SEI-CTNBio - Membros nº 9374711