

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA

Parcer Técnico Dra. Helaine Carrer

Processo: 01250.057492/2018-63

Data de Protocolo: 31/10/2018

Requerente: Dow AgroSciences Industrial Ltda.

Assunto: Liberação comercial milho MON-87427-7 x MON-89034-3 X DAS-01507-1 x MON-87411-9 X DAS-59122-7 x DAS-40278-9.

CQB: 107/99

CNPJ: 08.636.452/0001-76

Endereço: Av. Antônio Diederichsen, 400, 18º andar, Bairro Jd América, Ribeirão Preto (SP).

Presidente da CIBio: Luiz Henrique Telles

Descrição do OGM: milho geneticamente modificado para tolerância a herbicidas e resistência a insetos.

Classificação: Classe de Risco I

Resolução Normativa: RN 09/2011

1. Identificação do OGM

Designação do OGM: milho MON-87427-7 x MON-89034-3 X DAS-01507-1 x MON-87411-9 X DAS-59122-7 x DAS-40278-9.

Característica Inserida: resistência a insetos e tolerância aos herbicidas glufosinato de amônio, glifosato e 2,4-D.

Método de introdução da característica: O milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 foi desenvolvido por melhoramento genético clássico, sendo resultado do cruzamento clássico entre os milhos MON-87427-7, MON-89034-3, DAS-01507-1, MON-87411-9, DAS-59122-7 e DAS-40278-9.

Uso proposto: manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo e descarte, e de seus derivados.

2. **Proteínas Expressas:**

Cry1A.105 - confere resistência a inseto;

Cry2Ab2 - confere resistência a inseto;

Cry1F - confere resistência a inseto;

Cry34Ab1 - confere resistência a inseto;

Cry35Ab1 - confere resistência a inseto;

ADD-1 - confere tolerância ao herbicida 2,4-D;

CP4-EPSPS - confere tolerância ao herbicida glifosato;

PAT- confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio;

3. **Área de Restrição Ambiental:** 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”

4. **Fundamentação Técnica:** A Dow AgroSciences Industrial Ltda. requer, na forma da Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, do Decreto 5.591, de 22 de novembro de 2005, e da Resolução Normativa Nº 5, de 12 de março de 2008, que seja emitido Parecer Técnico Prévio Conclusivo relativo à biossegurança do organismo geneticamente modificado (OGM) designado milho MON-87427-7 x MON-89034-3 X DAS-01507-1 x MON-87411-9 X DAS-59122-7 x DAS-40278-9 e seus Derivados, para Uso na Alimentação Humana e Animal.

4.1. **Informações sobre os eventos:**

O milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, objeto desta solicitação à CTNBio para liberação comercial, é resultado de cruzamentos clássico entre variedades de milho que contêm cada um dos eventos isoladamente. Todos os eventos já foram individualmente liberados para uso comercial no Brasil além de participarem de outros eventos combinados, de menor complexidade que também já passaram por processos de liberação comercial e que estão em uso no Brasil.

O milho MON-87427-7 possui o gene cp4 epsps que codifica a proteína CP4 EPSPS, a qual promove tolerância ao herbicida glifosato. O método de introdução foi a transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

Liberado para alimentação humana em 21 países, alimentação animal em 18 e para cultivo em 8 países (ISAAA, consulta feita em fevereiro de 2019). Liberado para os três usos em sete países incluindo Brasil, Argentina, Canadá, Estados Unidos da América e Japão. Liberado para uso comercial no Brasil em 2016.

O milho MON-89034-3 possui os genes cry1A.105 e cry2Ab2 que codificam, respectivamente, as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, as quais promovem resistência a determinados insetos praga da ordem Lepidoptera. O método de introdução foi a transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Liberado para alimentação humana em 21 países, alimentação animal em 18 e para cultivo em 10 países (ISAAA, consulta feita em fevereiro de 2019). Liberado para os três usos em oito países incluindo Brasil, Argentina, Canadá, Estados Unidos da América e Japão. Liberado para uso comercial no Brasil em 2017.

O milho DAS-01507-1 (TC 1507) possui os genes cry1F e pat codificando, respectivamente, as proteínas Cry1F e PAT, as quais promovem resistência a determinados insetos praga da ordem Lepidoptera e tolerância ao herbicida glufosinato de amônio, respectivamente. O milho DAS-01507-1 foi obtido por transformação genética via aceleração de micropartículas, com a inserção de um fragmento de restrição do plasmídeo PHP8999. Este fragmento possui uma construção gênica que contém o gene cry1F de *Bacillus thuringiensis* var. aizawai e o gene pat oriundo do microrganismo *Streptomyces viridochromogenes*. A expressão destes dois genes é controlada por promotores específicos, que regulam a transcrição do mRNA codificador das proteínas Cry1F e PAT. O hospedeiro do vetor PHP8999 é a bactéria *Escherichia coli*. Liberado para alimentação humana em 23 países, alimentação animal em 17 e para cultivo em 12 países (ISAAA, consulta feita em fevereiro de 2019). Liberado para os três usos em dez países incluindo Brasil, Argentina, Colômbia, Canadá, Estados Unidos da América e Japão. Liberado para uso comercial no Brasil em 2008.

O milho MON-87411-9 possui os genes cp4 epsps e cry3Bb1 que codificam, respectivamente, as proteínas CP4 EPSPS e Cry3Bb1, as quais promovem tolerância ao herbicida glifosato e resistência a determinados insetos praga da ordem Coleoptera, respectivamente. Além disso, possui a sequência codificadora do RNA dupla fita contendo um fragmento do gene DvSnf7 que promove resistência à *Diabrotica virgifera*. O método de introdução foi a transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Liberado para alimentação humana em 11 países, alimentação animal em 7 e para cultivo em 5 países (ISAAA, consulta feita em fevereiro de 2019). Liberado para os três usos no Brasil, Canadá e Estados Unidos da América. Liberado para uso comercial no Brasil em 2016.

O milho DAS-59122-7 possui os genes cry34Ab1, cry35Ab1 e pat que codificam, respectivamente, as proteínas Cry34Ab1 e Cry35Ab1, as quais promovem resistência a determinados insetos praga da ordem Coleoptera, e a proteína PAT, a qual promove tolerância ao herbicida glufosinato de amônio. O método de introdução foi a transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Liberado para alimentação humana em 15 países, alimentação animal em 12 e para cultivo em 3 países (ISAAA, consulta feita em fevereiro de 2019). Liberado para os três usos no Brasil, Canadá, Japão e Estados Unidos da América. O evento TC1507 x DAS-59122-7 (Herculex XTRA™) foi liberado para uso comercial no Brasil em 2013. O evento MON89034 x MON88017 x TC1507 x DAS-59122-7 (Genuity® SmartStax™) foi liberado para uso comercial no Brasil em 2016.

O milho DAS-40278-9 possui o gene aad-1 (aryloxyalkanoate dioxygenase 1 de *Sphingobium herbicidovorans*), que codifica a proteína AAD-1, a qual confere tolerância ao herbicida 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxiacético) e a herbicidas do grupo dos ariloxifenoxipropionatos (AOPPs). O método de introdução foi a transformação mediada por whiskers. Liberado para alimentação humana em 15 países, alimentação animal em 10 e para cultivo em 4 países (ISAAA, consulta feita em fevereiro de 2019). Liberado para os três usos no Brasil, Argentina, Canadá e Estados Unidos da América. Em termos de resistência de plantas daninhas na cultura do milho, a resistência as ariloxifenoxipropionatos é mais relevante do que a resistência ao 2,4-D por permitir o uso seletivo de herbicidas com ação em gramíneas. É importante ressaltar que outros herbicidas gramínicidas de outros grupos químicos se manterão efetivos no controle do milho, sendo alternativa na eliminação de tigueras. A resistência aos ariloxifenoxipropionatos e ao 2,4-D, desde que racionalmente utilizada, pode contribuir para o manejo de plantas daninhas resistentes a outros herbicidas, como buva (*Conyza spp.*) e capim-amargoso (*Digitaria insularis*). Liberado para uso Comercial em 2015.

4.2. Caracterização molecular do inserto no organismo receptor

A análise de Southern blot foi realizada com amostras de milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 utilizando sondas específicas para os genes promotor e35s (Sonda 1), intron Hsp70 (Sonda 1), cp4 epsps (Sonda 2), cry1A.105, cry2Ab2, cry1F, pat, cry3Bb1, cry34Ab1, cry35Ab1 e aad-1. Todos os padrões de hibridação gerados por cada sonda para o milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 foram idênticos aos dos eventos individuais correspondentes. Os resultados indicam que a estrutura dos genes, oriundos dos eventos individuais, não foi afetada pela combinação dos genes por melhoramento clássico, no milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9.

Para confirmar a ausência de sequências indesejadas do vetor original no genoma do milho DAS-40278-9, foram utilizadas sondas que cobrem toda a sequência do vetor original (OLP4A, B e C), que não fazem parte da construção gênica de interesse. Os resultados indicaram que apenas o inserto desejado foi inserido no genoma do milho DAS-40278-9, sem qualquer outra sequência adicional do vetor utilizado na transformação.

4.3. Análise do Produto da expressão e quantificação da expressão das proteínas

As proteínas CP4 EPSPS, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT, Cry3Bb1, Cry34Ab1, Cry35Ab1 e AAD-1 no milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, demonstrou estabilidade genotípica e fenotípica para cada um dos seis eventos singulares (MON-87427-7, MON-89034-3, DAS-01507-1, MON-87411-9, DAS-59122-7 e DAS-40278-9), e o fato dos genes exógenos introduzidos apresentarem segregação mendeliana, permite a conclusão de que os genes exógenos inseridos no genoma de milho atuam como se fossem genes naturais da espécie. Como o milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 foi obtido por melhoramento genético clássico, e as evidências da estabilidade dos genes no evento combinado pelas análises por Southern blot (ítem 10.7.8), pode-se inferir que os descendentes e as futuras gerações do milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 apresentarão também segregação mendeliana dos genes inseridos nos eventos singulares, assim como deverão mostrar igualmente estabilidade fenotípica e genotípica.

4.4. Descrição dos Efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes

As análises realizadas no milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, em ensaios a campo conduzidos em 2015 em oito regiões produtoras de milho dos Estados Unidos, com práticas agrônômicas adequadas e condições ambientais variadas não demonstraram efeitos pleiotrópicos ou epistáticos. Os testes foram realizados com o milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, com seu milho controle convencional correspondente (Iso-híbrido), e com milhos híbridos de referência, em locais nos Estados de Illinois, Iowa, Indiana, Missouri, Nebraska e Pensilvânia.

4.5. Análises de Equivalência entre o milho GM e o milho convencional

As avaliações de características agrônômicas foram conduzidas para investigar a equivalência entre

o milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9 e o milho convencional Iso-híbrido. No total, 19 características agronômicas foram avaliadas neste estudo (população inicial, vigor de plântulas, altura da planta, florescimento masculino, florescimento feminino, altura da espiga, stay green, acamamento, quebramento, espigas caídas, dias até a maturidade fisiológica, população final, contagem de espigas, umidade de grãos, peso de 100 sementes, produtividade, incidência de doenças, danos de inseto e estresses abióticos). As análises revelaram que os genes inseridos não produziram alterações na composição química e nutricional dos grãos e da forragem, que assim demonstra que não houve interações dos genes endógenos do genoma de milho receptor e dos exógenos.

4.6. Quantificação da expressão das proteínas

Ensaio de campo foram realizados para determinar a expressão das proteínas CP4 EPSPS, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT, Cry3Bb1, Cry34Ab1, Cry35Ab1 e AAD-1 tendo os seguintes tratamentos: milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9, milho contendo todos os respectivos eventos individuais e milho controle convencional. Os ensaios de campo foram realizados na safra de 2015, em oito locais de teste localizados nas regiões produtoras de milho dos Estados Unidos, representando regiões de práticas agronômicas adequadas e condições ambientais próprias para a cultura do cereal. Os ensaios de campo foram realizados em locais nos Estados de Illinois, Iowa, Indiana, Missouri, Nebraska e Pensilvânia. Os níveis de expressão das proteínas foram quantificados em amostras de folha (estádios de crescimento V2-V4, V9 e R1), raiz (R1), forragem (R5) e grão (R6) no milho MON-87427-7, milho MON-89034-3, milho DAS-01507-1, milho MON-87411-9, milho DAS-59122-7, milho DAS-40278-9 e no milho combinado MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9, tratado com e sem aplicação dos herbicidas 2,4-D, glifosato, quizalofop e glufosinato utilizando métodos quantitativos ESLISA. Em geral, os níveis de expressão das proteínas CP4 EPSPS, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, PAT, Cry3Bb1, Cry34Ab1, Cry35Ab1 e AAD-1 no milho combinado (stack) MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9 foram semelhantes aos encontrados nos seus respectivos componentes individuais, indicando que não houve alterações biologicamente significativas na expressão das proteínas ao combinar os milhos com os eventos individuais usando métodos de melhoramento clássico.

4.7. Análise de Estabilidade Genotípica, capacidade de reprodução, sobrevivência, disseminação ou transferência de genes inseridos para outros organismos

As análises apresentadas no documento demonstraram que o milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-4027 são equivalente ao milho convencional em todas as suas características fenotípicas, agronômicas, reprodutivas e nutricionais, com a única diferença representada pelas características específicas aportadas pelos genes inseridos. O fenótipo das plantas de milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9 é equivalente ao fenótipo da planta original, no que se refere aos órgãos reprodutivos, à duração do período de desenvolvimento da planta e ao seu método de propagação. Além disso, o milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9, assim como o milho convencional, não são espécies invasivas e no ecossistemas naturais e não apresentam tendência a proliferar-se como planta daninha. As modificações genéticas inseridas no milho MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9, descritas em detalhe no documento, não possuem qualquer ação ou relação com os processos naturais de reprodução, disseminação e sobrevivência da espécie receptora.

4.8. Avaliação de risco à saúde humana e animal

Resultados da análise composicional do grão e forragem do milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9, incluindo análise centesimal, fibras, minerais, aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas, anti-nutrientes e metabólitos secundários, foram todos estatisticamente indistinguíveis dos resultados do Iso-híbrido, e com valores dentro do intervalo de valores dos híbridos não transgênicos usados como referência e dos valores reportados na literatura. Os resultados deste estudo demonstram equivalência composicional entre o milho MON-87427-7 x MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-87411-9 x DAS-59122-7 x DAS-40278-9 e o milho não transgênico convencional.

Estudo de comparação entre o desenvolvimento e a saúde de frangos de corte alimentados com dieta preparada com farinha de milho do evento MON-

87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9, com a dieta de farinhas do milho não geneticamente modificado (Iso-híbrido), e com dietas preparadas de farinhas de três híbridos de milho comercial, por um período de 6 semanas. Dietas para as fases de desenvolvimento, Inicial, de Engorda e de Acabamento, foram preparadas usando cada farinha de milho formulada para atender as necessidades nutricionais dos frangos em estudo. As dietas foram preparadas usando cada tipo de farinha milho com taxa de inclusão de aproximadamente 52% na fase Inicial, 55% na fase de Engorda e 58% no Acabamento. A metodologia de estudo usada é representativa do tipo de estudo de segurança alimentar animal, e foi conduzida em BPL de acordo com o U.S. EPA FIFRA Good Laboratory Practices. Resultados demonstraram que nenhuma observação anormal foi notada durante os exames conduzidos nas aves selecionadas para o processamento no final do estudo. Não houve diferenças significativas para porcentagem de sobrevivência entre as aves que consumiram o milho GM e o milho convencional Iso-híbrido, bem como entre a porcentagem de sobrevivência entre machos e fêmeas e peso dos animais.

Baseado nos resultados das análises realizadas, com um elevado número de indivíduos avaliados e um volumoso número de variáveis estudadas, pode-se concluir que o milho transgênico MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9 é nutricionalmente equivalente ao milho não transgênico Iso-híbrido convencional.

5. **Parecer:** Com base nas informações apresentadas pela empresa Dow Agrosiences, CQB 107/99 e dados de literatura consultada referente ao processo 01250.057492/2018-63 de liberação comercial do milho transgênico MON-87427-7 × MON-89034-3 × DAS-01507-1 × MON-87411-9 × DAS-59122-7 × DAS-40278-9, o qual enquadra-se na Classe de Risco 1 (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade), de acordo com o Artigo 8 da Resolução Normativa n1/4 2, de 27 de novembro de 2006 da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança e conforme análise dos resultados dos estudos realizados, considero que o evento não apresenta efeitos adversos ao meio ambiente ou à saúde humana e animal. Assim, sou pelo **deferimento** desta solicitação com autorização de uso de seus grãos, produtos e derivados para a alimentação humana ou animal, processos de manipulação, transporte, comercialização, importação, exportação, armazenamento e descarte.

O artigo 4o. da Resolução Normativa 05 da CTNBio, alterado pela Resolução Normativa 20 dessa Comissão, estabelece que "A decisão favorável à liberação comercial de Organismo Geneticamente Modificado - OGM que contenha mais de um evento, combinados através de melhoramento genético

clássico, cujos eventos individuais tenham sido previamente aprovados para liberação comercial pela CTNBio, aplicar-se-á às combinações possíveis dos eventos individuais"

Literatura Consultada

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Arlington, 1995. v.2.

BARTHOLOMAEUS, A.; PARROTT, W.; BONDY, G.; WALKER, K. The use of whole animal studies in the safety assessment of genetically modified crops: limitations and recommendations. *Crit. Rev. Toxicol.*, v.43, p. 1-24, 2013. Batista, R.,

BEEVER, D.E., GLENN, K., PHIPPS, R.H., 2003. A safety evaluation of genetically modified feedstuffs for livestock production; the fate of transgenic DNA and proteins. *Asian Austral J Anim* 16, 764-772.

BONDZIO, A., STUMPF, F., SCHON, J., MARTENS, H., EINSPANIER, R., 2008. Impact of *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ab on rumen epithelial cells (REC) - a new in vitro model for safety assessment of recombinant food compounds. *Food Chem Toxicol* 46, 1976-1984.

BRAVO, A., GILL, S.S., SOBERON, M., 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon* 49, 423-435.

CELLINI, F. et al. Unintended effects and their detection in genetically modified crops. *Food Chemistry Toxicology*, v. 42, p. 1089-1123, 2004.

CHASSY, B. M. Can -omics inform a food safety assessment? *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 58, S62-S70, 2010. Dankocsik, C., Donovan, W.P., Jany, C.S., 1990. Activation of a cryptic crystal protein gene of *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* by gene fusion and determination of the crystal protein insecticidal specificity. *Mol Microbiol* 4, 2087-2094.

DE SCHRIJVER, A., DEVOS, Y., VAN DEN BULCKE, M., CADOT, P., DE LOOSE, M., REHEUL, D., SNEYERS, M., 2007. Risk assessment of GM stacked events obtained from crosses between GM events. *Trends Food Sci Tech* 18, 101-109.

EMBREY SK, KORJAGIN VA, 2008. In Vitro Simulated Gastric Fluid Digestibility of Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 (abbreviation AAD-1). In. Indianapolis, IN: Dow AgroSciences LLC.

GUTTIKONDA, S.2017. Sequence Similarity Assessment of AAD-1 to Known Allergens and ProteinToxins by Bioinformatics Analysis In. Indianapolis, IN, Dow AgroSciences LLC.

HAMMOND, B.G., HILEMAN, R.E., ASTWOOD, J.D., FUCHS, R.L., 2001. Safety and advantages of Bt. (Cry) proteins. Abstr Pap Am Chem S 222, U66-U67.

ISAAA:

<http://www.isaaa.org/kc/cropbiotechupdate/translations/portugueseweb/newsletter/default.asp>. Acessado em 09/03/2019.

KOK, E. J.; KUIPER, H. A. Comparative safety assement for biotech crops. Trends in Biotechnology, v. 21, n. 10, p. 439-444, 2003.

KÖNIG, A. et al. Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. Food and Chemical Toxicology, v. 42, n. 7, p. 1047-1088, 2004.

KÖNIG, A., COCKBURN, A., CREVEL, R.W.R., DEBRUYNE, E., GRAFSTROEM, R., HAMMERLING, U., KIMBER, I., KNUDSEN, I., KUIPER, H.A., PEIJNENBURG, A.A.C.M., PENNINKS, A.H., POULSEN, M., SCHAUZU, M., WAL, J.M., 2004. Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. Food and Chemical Toxicology 42, 1047-1088.

LADICS, G.S., 2008. Current codex guidelines for assessment of potential protein allergenicity. Food and Chemical Toxicology 46, S20-S23.

LONE, S.A., YADAV, R., MALIK, A., PADARIA, J.C., 2016. Molecular and insecticidal characterization of Vip3A protein producing *Bacillus thuringiensis* strains toxic against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Can J Microbiol 62, 179-190.

MISHRA, A., GAUR, S.N., SINGH, B.P., ARORA, N., 2012. In silico assessment of the potential allergenicity of transgenes used for the development of GM food crops. Food and Chemical Toxicology 50, 1334-1339.

NARANJO, S.E., 2005. Long-term assessment of the effects of transgenic Bt cotton on the abundance of nontarget arthropod natural enemies. Environ Entomol 34, 1193-1210.

PARROTT, W., CHASSY, B., LIGON, J., MEYER, L., PETRICK, J., ZHOU, J., HERMAN, R., DELANEY, B., LEVINE, M., 2010. Application of

food and feed safety assessment principles to evaluate transgenic approaches to gene modulation in crops. *Food and Chemical Toxicology* 48, 1773-1790.

RANDHAWA, G.J., SINGH, M., GROVER, M., 2011. Bioinformatic analysis for allergenicity assessment of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins expressed in insect-resistant food crops. *Food and Chemical Toxicology* 49, 356-362.

RICROCH, A. E. Assessment of GE food safety using “-omics” techniques and long-term animal feeding studies. *New Biotechnology*, v. 30, p. 349-354, 2013.

RUEBELT, M. C. et al. Application of two-dimensional gel electrophoresis to interrogate alterations in the proteome of genetically modified crops. 1. Assessing analytical validation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, n. 6, p. 2154-2161, 2006

SHIMADA, N., KIM, Y.S., MIYAMOTO, K., YOSHIOKA, M., MURATA, H., 2003. Effects of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin on mammalian cells. *J Vet Med Sci* 65, 187-191.

SONG P, 2010a. Potential Allergenicity Assessment of AAD-1 Protein Expressed in Maize Event DAS-40278-9 by Bioinformatics Analysis (Update: March, 2010). In. Indianapolis, IN: Dow AgroSciences LLC.

STADLER, M.B., STADLER, B.M., 2003. Allergenicity prediction by protein sequence. *FASEB J* 17, 1141- 1143. WANG, E. H.; YU, Z.; HU, J.; XU, H. B. Effects of 90-day feeding of transgenic Bt rice TT51 on the reproductive system in male rats. *Food and Chemical*

STAGG NJ, THOMAS J, HERMAN RA, JUBERG DR, 2012. Acute and 28-day repeated dose toxicology studies in mice with aryloxyalkanoate dioxygenase (AAD-1) protein expressed in 2,4-D tolerant DAS-40278-9 maize. *Regul Toxicol Pharmacol* 62, 363-70.

Data: 11/03/2019

Dra. Helaine Carrer

Membro da CTNBio