



## PARECER TÉCNICO

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

**Processo:** 01200.001761/2013-18

**Data de Protocolo:** 30/04/2013

**Requerente:** Du Pont do Brasil SA – Divisão Pioneer Sementes;

**CNPJ:** 61.064.929/0043-28

**Endereço:** SGAS 902 LT. 74 Cj B salas 221 a 224, Bloco A Ed. Athenas, Brasília - DF.

**CQB:** 013/97

**Presidente da CIBio:** Goran Kuhar

**Proposta:** Liberação comercial do milho geneticamente modificado denominado Evento DP-32138-1 expressando a característica de restauração da fertilidade em linhagens de milho macho-estéreis, com a finalidade de utilização no processo de multiplicação de sementes básicas.

**Classificação de Risco:** classe de Risco I, conforme apresentado pela requerente.

**Descrição do OGM:** O evento DP-32138-1 (denominado “mantenedor SPT 32138”) foi gerado por meio de transformação mediada por agrobactéria em uma linhagem de milho naturalmente macho-estéril (*ms45/ms45*) utilizando um plasmídeo contendo três cassetes de expressão: *Ms45*, *zm-aa1*, e *DsRed2(Alt1)1*.

1) O *Ms45* é um gene do milho que codifica a proteína MS45 expressa na antera e necessária à produção de pólen fértil. A mutação no gene *Ms45* resulta em plantas macho-estéreis quando em estado de homozigose recessiva (*ms45/ms45*). Uma única cópia do gene *Ms45* pode restaurar a fertilidade em macho-estéreis *ms45/ms45*.

2) O *zm-aa1* é um gene do milho que codifica a proteína ZM-AA1  $\alpha$ -amilase com a função de catalisar hidrólises de ligações de glicosídicas-(1-4)- $\alpha$ -D resultando em moléculas de polissacarídeos, tais como o amido. A expressão da ZM-AA1  $\alpha$ -amilase no desenvolvimento do pólen resulta na hidrólise do amido e o esgotamento das reservas do mesmo, deixando o pólen infértil.

3) O gene *DsRed2(Alt1)* é um gene marcador que codifica uma variante da proteína fluorescente vermelha (*DsRed2*) que produz uma coloração vermelho-rosada na camada de aleurona das sementes de milho, permitindo a identificação visual e uma separação automática eficiente entre as sementes do mantenedor SPT 32138 e as sementes amarelas não-transgênicas.

**Uso Proposto pela Requerente:** Liberação comercial do milho evento DP-32138-1. Conforme apresentado pela requerente em sua solicitação: “A DuPont Pioneer solicita à CTNBio, a emissão de um Parecer Técnico aprovando a utilização do evento DP-32138-1 para operações de produção de sementes de caráter interno da empresa, nos termos do Artigo 4 da Resolução Normativa Número 5 de 12 de Março de 2008.”

### Fundamentação:

A requerente, empresa Du Pont do Brasil S.A., solicita através do processo nº 01200.001761/2013-18 a liberação comercial do milho geneticamente modificado Evento DP-32138-1, expressando a característica de restauração da fertilidade em linhagens de milho macho-estéreis. O evento denominado pela requerente de mantenedor SPT 32138 foi desenvolvido através de transformação mediada por agrobactéria em uma linhagem de milho naturalmente macho-estéril.

O processo desenvolvido pela requerente é denominado de 'Seed Production Technology' (SPT) – Tecnologia de Produção de Sementes e tem o objetivo de facilitar a produção interna em grande escala de linhagens de milho macho-estéreis que são utilizados como genitores femininos na produção de sementes de milho híbridas, que requer o cruzamento de duas linhagens parentais. Nesse caso a linhagem parental feminina deve ser impedida de produzir e liberar pólen, a fim de evitar a autopolinização, o que reduz a qualidade da semente híbrida. A SPT, segundo a requerente, apresenta uma série de vantagens comparada com outras abordagens para controlar a macho-fertilidade em linhagens parentais femininas, tais como o despendoamento (remoção física dos pendões produtores de pólen) ou a macho-esterilidade citoplasmática (MEC). O processo de SPT não requer despendoamento, funciona em todos os tipos de germoplasma, aumenta a produtividade e a qualidade das sementes híbridas, e produz plantas híbridas F1 totalmente férteis.

O processo de SPT faz o uso transitório do evento SPT 32138 no início do processo de multiplicação das sementes básicas. O mantenedor SPT 32138 é usado como polinizador para propagar sementes de linhagens femininas macho-estéreis. As sementes da linhagem feminina produzidas dessa maneira não contêm a inserção do evento SPT 32138 e, conseqüentemente, as sementes híbridas F1 produzidas com a utilização destas linhagens parentais fêmeas macho-estéreis como também os grãos comerciais produzidos nos campos não contém inserto derivado do evento SPT 32138 e, portanto, não são transgênicos para SPT.

O mantenedor SPT 32138 foi gerado por meio de transformação mediada por agrobactéria em uma linhagem de milho genética e naturalmente macho-estéril (*ms45/ms45*) com um plasmídeo contendo três cassetes de expressão essenciais ao funcionamento do sistema SPT: o *Ms45*, o *zm-aa1*, e o *DsRed2(Alt1)1*. A expressão da proteína MS45 restaura a fertilidade em materiais macho-estéreis do mantenedor SPT 32138, possibilitando a produção de pólen. Entretanto, o gene *Ms45* no mantenedor SPT 32138 é hemizigoto (*Ms45/-*) e, como consequência, apenas metade do pólen produzido contém o gene *Ms45*. Essa metade do pólen também contém o gene *zm-aa1* que codifica a enzima  $\alpha$ -amilase que destrói o amido, deixando o pólen transgênico (*Ms45/zm-aa1/DsRed2(Alt1)*) infértil. A metade restante do pólen é não-transgênica para a inserção de SPT, permanecendo então, fértil, e carrega o gene endógeno recessivo *ms45*. Portanto, quando o mantenedor SPT 32138 é usado como polinizador para propagar as sementes de linhagens fêmeas macho-estéreis que não são transgênicas para a SPT, as progênies resultantes retêm seu genótipo macho-estéril (*ms45/ms45*) e não contêm a inserção SPT 32138, sendo, portanto, não transgênica para SPT. Dessa forma, os híbridos comerciais F1 produzidos utilizando essa progênie macho-estéril e seus respectivos grãos, não contêm a inserção SPT 32138 sendo, também, não transgênicos para SPT. O gene marcador colorido fluorescente (*DsRed2(Alt1)*) confere o fenótipo vermelho rosado a qualquer semente expressando a inserção SPT 32138. Dessa forma, sob iluminação adequada, as sementes contendo a inserção SPT podem ser prontamente detectadas e separadas das sementes que não contêm a inserção do evento SPT 32138, usando separação mecânica por cores.

A requerente, além da classificação mecânica por cor, apresenta na proposta uma série de medidas que deverão ser adotadas para garantir a pureza e a qualidade das sementes produzidas com a tecnologia SPT, incluindo a contenção reprodutiva, o manuseio das sementes em instalação exclusiva para SPT, o tingimento das sementes com a cor azul, a identificação dos sacos com 'mantenedor' etc .

A requerente foi consultada pela Coordenação Geral da CTNBio (Carta Pio. Reg. 302/2013) sobre a tecnologia utilizada no evento de modificação genética SPT 32138 e se esta se enquadraria como "tecnologia de restrição de uso (GURT)", de acordo com a definição apresentada no Art. 6º da Lei 11.105/2005 e apresentou a seguinte resposta: " O evento SPT 32138 tem como objetivo restaurar a fertilidade de estruturas florais masculinas (pendões) em linhagens já naturalmente macho-estéreis, por conta de uma mutação identificada no genoma do milho. Assim, o mantenedor

*SPT é fértil e não requer um indutor químico para sua ativação.*” Dessa forma, considerando que o milho transformado é **naturalmente macho-estéril** e que a transformação tem como objetivo **restaurar a fertilidade** não entendemos, na análise da avaliação de risco baseada nas informações apresentadas pela requerente, que esta tecnologia seja considerada uma tecnologia de restrição de uso de acordo com a definição apresentada na citada Lei.

#### **PARECER FINAL:**

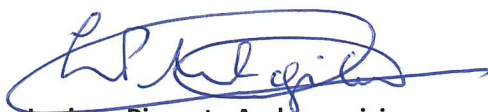
Após análise das informações sobre a avaliação de risco do evento SPT 32138 apresentadas pela requerente, considero que as seguintes informações deverão ser complementadas, de acordo com os requisitos estabelecidos na RN 05/2008:

- 1) Reavaliação do uso proposto para liberação comercial do evento SPT 32138: Apesar da requerente declarar na proposta apresentada para o mantenedor SPT 32138 que *“não é um evento para uso comercial ou parte de um produto comercial. Ele será cultivado em uma área limitada, para as necessidades internas de produção de sementes da empresa, e não existe o intuito de introduzi-lo em escala comercial.”* e *“requerer à Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, a emissão de um Parecer Técnico referente à utilização do evento DP-32138-1 para operações de produção de sementes de caráter interno da empresa”*, a requerente apresenta no item 5.1 a descrição de que quantidades mínimas de sementes do mantenedor SPT 32139 e partes vegetativas poderiam ser usadas como matéria prima para ração animal. Dessa forma a empresa deverá reavaliar a solicitação contida no item I - Requerimento a fim de adequá-lo ao uso proposto para o OGM em questão e as demais informações que julgar necessárias apresentadas na proposta de liberação comercial;
- 2) Esclarecer se os maiores níveis de concentração da proteína ZM-AA1 no pólen de plantas cultivadas nos EUA (tabela 9) quando comparados aos dados das plantas cultivadas no Brasil (tabela 10) poderiam influenciar na eficiência genética em termos de uma maior ou menor fertilidade do pólen e a conseqüente maior ou menor habilidade de transmissão da inserção SPT 32138 para semente;
- 3) A requerente afirma na proposta que a precisão do classificador mecânico de cor é maior que 99,95%. Esclarecer se tal precisão independe do nível de concentração da proteína DsRed2 nas sementes, considerando os níveis apresentados nos estudos de campo nos EUA e Brasil (tabelas 10 e 12);
- 4) Considerando que houve expressão da proteína DsRed2 nas folhas de milho com concentração máxima de 300 ng/mg (tabelas 10 e 12), mesmo utilizando um promotor com transferência preferencial na aleurona, discutir na avaliação de risco se níveis aumentados de expressão dessa proteína poderiam influenciar nos processos metabólicos, tais como a fotossíntese, nas plantas de milho;
- 5) A requerente cita como método de detecção PCR evento específico a referência de Brink et al., 2012. Esclarecer se existe material de referência disponível para validação do método descrito;

- 6) Apresentar resultados de estudos sobre avaliações agronômicas e fenotípicas do evento SPT 32138 em linhagens de milho utilizadas no Brasil em liberação planejada no meio ambiente realizada em região representativa do cultivo do milho evento SPT 32138;

Considerando o exposto, indico a **DILIGÊNCIA** do presente processo, aguardando a manifestação da requerente.

Data: 02/05/14



**Luciana Pimenta Ambrozevicius**  
Relator – Membro da CTNBio



**Fernanda Antinolfi Lovato**  
Relator – Membro da CTNBio

Assessor: Gutemberg