

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA

Parecer Técnico

Relatora: Dra. Sandra Regina Ceccato Antonini

Processo nº: 01250.034206/2019-72

Requerente: Du Pont do Brasil

CQB: 13/97

Presidente da CIBio: Rutnéia Pessanha

Resolução Normativa: RN 05/2008

Extrato Prévio:

Reunião:

Decisão:

Título da proposta: Inclusão de subcombinações em liberação comercial de Milho e seus derivados

I- FUNDAMENTAÇÃO TÉCNICA

Finalidade (objetivo): pedido de dispensa de análise e emissão pela CTNBio de Parecer Técnico Conclusivo para a liberação comercial do evento combinado de milho MONO0603-6 x ACS-ZM003-2 x DAS-40278-9 (doravante chamado de milho NK603 x T25 x DAS-40278), tolerante aos herbicidas glifosato, glufosinato de amônio, 2,4-D e haloxifope-R

Uso Proposto: Liberação no meio ambiente, cultivo, produção, manipulação, transferência, transporte, comercialização, importação, exportação, armazenamento, consumo e descarte.

Identificação do OGM

- **Designação do OGM:** Milho
- **Espécie:** *Zea mays* L.
- **Características inseridas:** tolerância a herbicidas
- **Classificação do OGM:** Classe de Risco 1

Proteínas Expressas:

- CP4 EPSPS-confere tolerância ao glifosato;
- PAT
- aad-1

1. Solicitação

A requerente, através de missiva, solicita dispensa de análise e emissão pela CTNBio de Parecer Técnico Conclusivo para a liberação comercial do evento combinado de milho MONO0603-6 x ACS-ZM003-2 x DAS-40278-9 (doravante chamado de milho NK603 x T25 x DAS-40278), tolerante aos herbicidas glifosato, glufosinato de amônio, 2,4-D e haloxifope-R. O milho combinado NK603 x T25 x DAS-40278 foi obtido por cruzamento sexual dos eventos simples NK603, T25 e DAS-40278, previamente aprovados pela legislação nacional de biossegurança, Resolução Normativa n.º. 5, de 12 de março de 2008

Os milhos contendo os eventos simples NK603, T25 e DAS-40278 possuem os genes *cp4 epsps*, *pat* e *aad-1*, originários respectivamente, dos microrganismos não patogênicos *Agrobacterium* spp. cepa CP4, *Streptomyces viridochromogenes* e *Sphingobium herbicidovorans*, amplamente distribuídos na natureza, sem apresentar efeitos adversos aos seres humanos, aos animais e ao meio ambiente, inclusive ao milho, os quais compartilham o mesmo ambiente. Ao longo das pesquisas realizadas com os três eventos simples, em regime de contenção, foi demonstrado em programas de melhoramento genético clássico que os genes *cp4 epsps* do milho NK603, *pat* do milho T25 e *aad-1* do milho DAS-40278 apresentam inserção em cópia única nas plantas transformadas e que os insertos demonstram herança estável ao longo de gerações de cruzamentos, segregando da mesma forma que os próprios endógenos do milho. A análise de risco dos três eventos simples também demonstrou que os exógenos *cp4 epsps*, *pat* e *aad-1* apresentam diferentes modos de ação e operam em ambientes celulares distintos.

Esta situação é prevista no Art. 3o. da Resolução Normativa 05 da CTNBio que diz: "O OGM que contenha a mesma construção genética utilizada em OGM da mesma espécie, com parecer técnico favorável à liberação comercial no Brasil, passará por análise simplificada, visando sua liberação, a critério da CTNBio".

Além disso, conforme especificado no artigo 4º-A da Resolução Normativa N° 5 da CTNBio, de 12 de março de 2008, alterado pela Resolução Normativa N°20 da CTNBio, de 23 de março de 2018, temos:

"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."

Outrossim, o Art. 4, assevera:

A critério da CTNBio, sob consulta, poderão ser dispensadas a análise e a emissão de novo parecer técnico sobre OGMs que contenham mais de um evento, combinados através de melhoramento genético clássico e que já tenham sido previamente aprovados para liberação comercial pela CTNBio

2. Fundamentação Técnica

A fundamentação do requerimento junto à CTNBio baseia-se em evidências obtidas anteriormente que eventos individuais e eventos piramidados produzidos pela combinações desses eventos, gerados por melhoramento genético convencional são tão seguros quanto os eventos individuais e suas versões convencionais. A requerente apresentou informações sobre:

- Apresentação de informação referente aos genes introduzidos, os organismos de origem e suas funções específicas;
- Descrição detalhada do produto da expressão do gene inserido no organismo receptor;
- Comprovação do padrão de herança genética dos genes inseridos;
- Descrição dos efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos, quando observados;
- Demonstração do grau de estabilidade genotípica, especificando a metodologia utilizada e o número de gerações avaliadas;
- Informação sobre a existência de interações com efeitos adversos, quando dois ou mais genes forem introduzidos no mesmo OGM, por técnicas de ADN recombinante e suas possíveis consequências; e,
- Apresentação das modificações genéticas incluídas no OGM que podem alterar sua capacidade de reprodução, sobrevivência, disseminação ou transferência de genes inseridos para outros organismos.

3. Parecer

A requerente solicita dispensa de análise e de emissão de parecer técnico da CTNBio para o evento combinado de milho NK603 x T25 x DAS-40278, considerando o especificado no artigo 4º-A da Resolução Normativa N° 5 da CTNBio, de 12 de março de 2008, alterado pela Resolução Normativa N°20 da CTNBio, de 23 de março de 2018, do seguinte teor:

"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."

A requerente faz um extenso arrazoado para fundamentar o pedido, com base em evidências experimentais, históricas e científicas de que o evento combinado de milho NK603 x T25 x DAS-40278, obtido por melhoramento genético clássico pela combinação dos eventos simples, é seguro.

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 presente pedido de liberação comercial, com a dispensa de análise e da emissão pela CTNBio de novo Parecer Técnico, segundo o Art. 4º da Resolução Normativa n°. 5, de 12 de março de 2008, para o evento combinado de milho NK603 x T25 x DAS-40278, atende a legislação vigente.

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 que lhe são atribuídas pelo art. 14 da Lei 11.105/05, Bem como o disposto na Resolução Normativa 20 que alterou o Art. 4 da Resolução Normativa 05, a CTNBio considerou que o pedido atende às normas e as legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal, sendo que esta atividade não apresenta impactos significativos ao meio ambiente.

4. Referências Bibliográficas

Alibhai, M.F. e Stallings, W.C. 2001. Closing down on glyphosate inhibition - with a new structure for drug discovery. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 98: 2944-2946.

Anderson, K.S. e Johnson, K.A. 1990a. Kinetic and structural analysis of enzyme intermediates: lessons from EPSP Synthase. *Chemical Reviews.* 90: 1131-1149.

Anderson, K.S. e Johnson, K.A. 1990b. Kinetic and structural analysis of enzyme intermediates: lessons from EPSP Synthase. *Chem. Rev.* 90: 1131-1149. Barry, G.;

Taylor, M.; Padgett, S.R.; Kolacz, K.H.; Weldon, M.; Re, D.B.; Eichholz, D.Z.; Fincher, K. e Hallas, L. 1992a. Inhibitors of amino acid biosynthesis: strategies for imparting glyphosate tolerance to crop plants. *Biosynthesis and molecular regulation of amino acids in plants:* 139-145.

Barry, G.F.; Kishore, G.; Padgett, S.; Taylor, S.; Kolacz, K.; Weldon, M.; Re, D.B.; Eichholtz, D.E.; Fincher, K. e Halla, L. 1992b. Inhibitors of amino acid biosynthesis: strategies for imparting glyphosate tolerance to crop plants In *Biosynthesis and Molecular Regulation of Amino Acids in Plants*. In: Singh, B. K., Flores, H. E. e Shannon, J. C., editors, *Biosynthesis and molecular regulation of amino acids in plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD. p. 139-145.

Bartholomaeus, A.; Batista, J.C.; Burachik, M. e Parrott, W. 2015. Recommendations from the workshop on Comparative Approaches to Safety Assessment of GM Plant Materials: A road toward harmonized criteria? *GM Crops & Food* 6: 69- 79.

Baum, J.A. 1998. Transgenic *Bacillus thuringiensis*. *Phytoprotection* 79: 127-130.

Baum, J.A.; Johnson, T.B. e Carlton, B.C. 1999. *Bacillus thuringiensis*. Natural and recombinant bioinsecticide products. In: Hall, F. R. e Menn, J. J., editors, *Methods in Biotechnology. Pesticides: Use and Delivery*. Humana Press, Inc., Totowa, New Jersey. p. Pp 189-209.

Betz, F.S.; Hammond, B.G. e Fuchs, R.L. 2000. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 32: 156-173. doi:10.1006/rtph.2000.1426.
Bravo, A. 1997.

Phylogenetic relationships of *Bacillus thuringiensis* d-endotoxin family proteins and their functional domains. *Journal of Bacteriology* 179: 2793-

2801. Brevault, T.; Prudent, P.; Vaissayre, M. e Carriere, Y. 2009. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to Cry1ac and Cry2ab2 insecticidal proteins in four countries of the West African Cotton Belt. *Journal of Economic Entomology* 102(6): 2301-2309.

Cannon, R.J.C. 1993. Prospects and progress for *Bacillus thuringiensis*-based pesticides. *Pesticide Science* 37: 331-335. CLI. 2016. Performance criteria for evaluating regulatory systems that oversee approvals of biotechnology-derived or genetically modified crops. CropLife International, Brussels, Belgium. Codex. 2009.

Foods derived from modern biotechnology. Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. Crickmore, N.; Zeigler, D.R.; Feitelson, J.; Schnepf, E.; Van Rie, J.; Lereclus, D.; Baum, J. e Daen, D.H. 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62: 807-813. De Barjac, H.; Larget, I.; Bénichou, L.; Cosmao, V.; Viviani, G.; Ripouteau, H. e Papion, S. 1980. Innocuity test on mammals with serotype H-14 of *Bacillus thuringiensis*. WHO (WHO/VBC/80.761). De Maagd, R.A.; Bravo, A. e Crickmore, N. 2001. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends Genet.* 17: 193-199.

EPA, U.S. 1997. *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* Cry1A(c) and the genetic material necessary for its production in all plants. Exemption from the requirement of a tolerance on all raw agricultural commodities: Final rule. U.S. Environmental Protection Agency. Fed. Reg. 62: 17720.

EPA, U.S. 2001. *Bacillus thuringiensis* Cry3Bb1 and Cry2Ab2 protein and the genetic material necessary for its production in corn and cotton. Exemption from the requirement of a tolerance. Final rule. U.S. Environmental Protection Agency. Fed. Reg. 66: 24061-24066.

EPA, U.S. 2002. Biopesticide registration action document: *Bacillus thuringiensis* Cry2Ab2 protein and its genetic material necessary for its production in cotton. Amended. U.S. Environmental Protection Agency http://www.epa.gov/opppbd1/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_006487.pdf.

EPA, U.S. 2004. *Bacillus thuringiensis* Cry3Bb1; exemption from the requirement of a tolerance. Environmental Protection Agency Fed. Reg. 69: 16809-16814. Estruch, J.J.; Warren, G.W.; Mullins, M.A.; Nye, G.J.; Craig, J.A. e Koziel, M.G. 1996. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran

insects. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93: 5389-5394.

FAO/WHO. 1991. Strategies for assessing the safety of foods produced by biotechnology. FAO/WHO consultation. Geneva. FAO/WHO. 2001a. Evaluation of allergenicity of genetically modified foods - Report of a Joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United States, Roma, Itália. FAO/WHO. 2001b. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology.

Schwedler, D.A.; Gilbert, J.R. e Herman, R.A. 2006. Purification and characterization of a chimeric Cry1F d-endotoxin expressed in transgenic cotton plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 829-835.
Greenplate, J.T.; Mullins, J.W.; Penn, S.R.; Dahm, A.; Reich, B.J.; Osborn, J.A.; Rahn, P.R.; Ruschke, L. e Shappley, Z.W. 2003. Partial characterization of cotton plants expressing two toxin proteins from *Bacillus thuringiensis*: Relative toxin contribution, toxin interaction, and resistance management. *Journal of Applied Entomology* 127: 340-347.

Gruys, K.J. e Sikorski, J.A. 1999. Inhibitors of tryptophan, phenylalanine and tyrosine biosynthesis as herbicides. In: Singh, B., editor *Plant amino acids: biochemistry and biotechnology*. Marcel Dekker Inc., New York. p. 357-384.

Hadley, W.M.; Burchiel, S.W.; McDowell, T.D.; Thilsted, J.P.; Hibbs, C.M.; Whorton, J.A.; Day, P.W.; Friedman, M.B. e Stoll, R.E. 1987. Five-month oral (diet) toxicity/infectivity study of *Bacillus thuringiensis* insecticides in sheep. *Fundam Appl Toxicol* 8: 236-242.

Höfte, H. e Whiteley, H.R. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews* 53: 242-255.
Ibargutxi, M.A.; Muñoz, D.; de Escudero, I.R. e Caballero, P. 2008. Interactions between Cry1Ac, Cry2Ab, and Cry1Fa *Bacillus thuringiensis* toxins in the cotton pests *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Earias insulana* (Boisduval). *Biological Control* 47: 89-96. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.07.003>.

IPCS. 1999. Environmental health criteria 217: *Bacillus thuringiensis*. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety, Geneva, Switzerland.

ISAAA. 2017. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2017: Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years.

ISAAA Brief No. 53. ISAAA: Ithaca, NY. Kok, E.J.; Pedersen, J.; Onori, R.; Sowa, S.; Schauzu, M.; Schrijver, A.D. e Teeri, T.H. 2014. Plants with stacked genetically modified events: to assess or not to assess? Cell Press 32: 70-73.

Levin, J.G. e Sprinson, D.B. 1964a. The enzymatic formation and isolation of 3-enolpyruvylshikimate-5-phosphate. Journal of Biological Chemistry 239: 1142-1150.

Levin, J.G. e Sprinson, D.B. 1964b. The enzymatic formation and isolation of 3-enolpyruvylshikimate-5-phosphate. J Biol Chem 239: 1142-1150.

Data: 03/12/2019

Dra. Sandra Regina Ceccato Antonini

Membro CTNBio