

PARECER TÉCNICO Nº 4866/2015

Processo: 01200.001883/2014-95

Assunto: Liberação comercial de soja Eventos FG72 x A5547-127.

Data de Protocolo: 29/04/2014

Próton: 19.881/2014

Requerente: Bayer SA

CQB: 005/96

CNPJ: 18.459.628/0001-15

Endereço: Rua Domingos Jorge, 1100, Prédio 9701, Térreo, Bairro Socorro, São Paulo – SP.

Presidente da CIBio: Denis Lima

Extrato Prévio: 4.077/2014, publicado em 13/05/2014.

Reunião: 188ª Reunião ordinária, ocorrida em 10 de dezembro de 2015.

Decisão: Deferido

Descrição do OGM: Soja tolerante aos herbicidas glifosato, glufosinato de amônio e isoxaflutole.

Classificação: Classe de Risco I

Resolução Normativa: RN 05/2008

1. Identificação do OGM

Designação do OGM: FG72 x A5547-127

Espécie: Glycine max

Característica Inserida: tolerância aos herbicidas glifosato, glufosinato de amônio e isoxaflutole.

Método de introdução da característica: O produto contendo a combinação de Eventos FG72 x A5547-127 foi obtido através do melhoramento genético clássico de duas linhagens parentais: uma derivada do Evento FG72 e outra derivada do Evento A5547-127.

Uso proposto: consumo humano ou animal, comércio ou uso industrial, livre uso no meio ambiente, registro, ou qualquer outro uso ou atividade relacionados à soja geneticamente modificada, evento F72 x A5547-127 ou aos seus subprodutos.

2) Proteínas Expressas:

2mEPSPS – Confere tolerância ao herbicida glifosato.

HPPDW336 - Confere tolerância a herbicida à base de glifosato e isoxaflutole.

PAT - Confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio.

5) Fundamentação Técnica:

I- Caracterização do OGM:

O produto resultante da combinação de Eventos FG72 x A5547-127 foi obtido através do melhoramento genético clássico, por cruzamentos e seleção entre indivíduos de duas linhagens parentais: uma derivada do Evento FG72 e outra derivada do Evento A5547-127.

Os Eventos parentais FG72 e A5547-127 foram obtidos pelo método de aceleração de partículas (biobalística), utilizando como alvo tecidos de gema apical de soja. As construções genéticas

contendo as sequências nucleotídicas de interesse foram inseridas nos vetores pSF10 e pB2/35SAcK, respectivamente.

O Evento FG72 refere-se a uma linhagem de soja *hppdPfw336*, que codifica as proteínas 2mEPSPS e HPPDW336, responsáveis pelo atributo de seletividade a herbicidas à base de glifosato e isoxaflutole, respectivamente.

O gene *2mepsps* tem como origem o gene *epsps* de milho (*Zea mays*), com alteração através de mutação sítio-dirigida em apenas dois aminoácidos na sequência peptídica original, resultando numa proteína com menor afinidade de ligação ao glifosato, mantendo assim sua funcionalidade mesmo sob as condições de pulverização com este herbicida. As alterações levaram à troca de aminoácidos nas posições 102 (troca de treonina por isoleucina) e 106 (troca de prolina por serina) da proteína EPSPS nativa, dando origem ao duplo mutante *2mepsps* (LEBRUN *et al.*, 1997), que codifica a proteína 2mEPSPS. A única diferença entre a proteína nativa EPSPS de milho e a proteína 2mEPSPS expressa na soja FG72 é a troca dos dois aminoácidos nas posições 102 e 106 de suas sequências, que contem 445 aminoácidos no total. Ou seja, a identidade de sequência entre elas é de 99,6%. Assim, trata-se de uma proteína encontrada no milho, o qual tem um longo histórico de uso na alimentação humana e animal.

O gene *hppdPfw336*, que codifica a enzima p-hidroxifenilpiruvato dioxigenase (HPPD), tem como origem o gene *hppd* de *Pseudomonas fluorescens*. A estrutura e a função desta proteína são amplamente conhecidas. Esta enzima catalisa o segundo passo no catabolismo da tirosina, sendo responsável pela transformação do p-hidroxifenilpiruvato em ácido homogentísico (HGA). A proteína HPPD é a enzima alvo do herbicida isoxaflutole. A inibição da HPPD nativa pelo herbicida isoxaflutole resulta na desestabilização da fotossíntese, com o conseqüente branqueamento da folhagem e morte das plantas. Para reduzir a sensibilidade desta enzima ao herbicida, a HPPD foi alterada através da substituição do aminoácido triptofano por uma glicina na posição 336 na sequência original, resultando na HPPDW336. A enzima mutada HPPDW336, codificada pelo gene mutante *hppdPfw336*, tem afinidade diminuída pelo isoxaflutole (SAILLAND *et al.*, 2001), permitindo a sobrevivência das plantas que a expressam quando tratadas com este herbicida. A única diferença entre a proteína nativa HPPD de *P. fluorescens*, que contém 358 aminoácidos, e a proteína mutada HPPD W336 expressa na soja FG72 é a troca do aminoácido triptofano (W) para glicina (G) na posição 336 da sequência, ou seja, a identidade entre as duas proteínas é de 99,7%. Convém ressaltar que *Pseudomonas fluorescens*, de onde foi isolado o gene *hppd*, é uma bactéria gram-negativa não patogênica, ubíqua na natureza e encontrada na água, solos e rizosfera das plantas.

O Evento A5547-127 (LibertyLink®) foi obtido pela inserção do gene *pat*, que codifica a enzima PAT (fosfinotricina-N-acetil transferase), responsável pelo atributo de seletividade específica ao Glufosinato de amônio. O gene *pat*, expresso no OGM é oriundo da bactéria *Streptomyces viridochromogenes*. A enzima PAT (fosfinotricina-N-acetil transferase) catalisa a reação de “acetilação” da fosfinotricina, produzindo o composto N-acetil fosfinotricina (inativo). Uma vez que o gene *pat* nativo apresenta uma alta relação das bases nitrogenadas guanina e citosina (G:C), que é atípica para os vegetais, se fez necessária a síntese uma sequência nucleotídica modificada utilizando códons típicos das plantas. A sequência anterior ao códon de iniciação ATG foi ligeiramente alterada, sendo removido o sítio de ação da enzima *SaI*. Esta modificação não resultou em qualquer alteração na sequência dos aminoácidos da proteína PAT.

O Evento combinado FG72 x A5547-127, portanto, expressa três proteínas: 2mEPSPS, HPPDW336 e PAT, que conferem tolerância aos herbicidas glifosato, isoxaflutole e glufosinato de amônio, respectivamente.

A soja FG72 foi obtida pela integração do fragmento de DNA linear isolado do vetor plasmidial pSF10 contendo os cassetes de expressão dos genes *2mpsp*s e HPPD W336. O vetor pSF10 foi construído pela inserção dos genes *2mpsp*s e *hppdPfw336*, no plasmídeo de clonagem pBR322. O fragmento de interesse, de 7,3 kb, contendo os cassetes de expressão dos genes *2mepsps* e *hppdPfw336*, foi liberado do plasmídeo por clivagem com a enzima de restrição *SaI* e purificado por

HPLC, sendo então utilizado para a transformação da soja variedade JACK por biobalística. Portanto, a sequência do vetor não foi introduzida no OGM.

O cassete de expressão do gene *2mepsps* contém a sequência codificadora modificada do gene *epsps* de milho (*Zea mays*) sob o controle das seguintes sequências regulatórias: 1) a região promotora Ph4a748At do gene da Histona 4 de *Arabidopsis thaliana* (CHABOUTE *et al.*, 1987); 2) o intron 1 *h3At*, primeiro intron do gene II da Histona H3.III variante de *Arabidopsis thaliana* (CHAUBET *et al.*, 1992); 3) o peptídeo de trânsito TPotp C otimizado, que contém sequências de genes da subunidade pequena de RuBisCO de milho (*Z. mays*) e de girassol (*Helianthus annuus*) e que direciona a proteína modificada para os plastídeos, onde a proteína nativa EPSPS está localizada (LEBRUN *et al.*, 1996). Peptidases específicas são responsáveis pela clivagem e degradação deste peptídeo após o transporte (RICHTER & LAMPPA, 1999); 4) a sequência sinal de poliadenilação 3' *histonAt* do gene histona H4 de *A. thaliana* (CHABOUTE *et al.*, 1987).

O cassete de expressão do gene *hppdPfw336*, contém a sequência codificadora modificada do gene *hppd* de *Pseudomonas fluorescens* sob o controle das seguintes sequências regulatórias: 1) uma variante do promotor Ph4a748 de *A. thaliana* que contém uma duplicação interna, denominado Ph4a748 ABBC, e a sequência líder *etch* (proveniente do vírus do tabaco), a qual funciona como um *enhancer*; 2) o peptídeo de trânsito TPotp C otimizado, que contém sequências de genes da subunidade pequena de RuBisCO de milho (*Z. mays*) e de girassol (*Helianthus annuus*) e que direciona a proteína para os plastídeos, onde a proteína nativa EPSPS está localizada (LEBRUN *et al.*, 1996); 3) A região terminadora 3' nos do gene da nopalina sintase de *Agrobacterium tumefaciens*, responsável pelo sinal de poliadenilação.

O plasmídeo pB2/35SAcK, derivado do vetor pUC19, foi utilizado para a obtenção do evento A5547-127. No vetor pUC19, de onde se originou o pB2/35SAcK, verifica-se uma sequência “ori” que é responsável pelo início e controle de replicação do plasmídeo, e ainda, o gene β -lactamase (*bla*), responsável pela característica de resistência aos antibióticos tipo ampicilina. Ambas as sequências são derivadas de *Escherichia coli*. Para evitar qualquer possível efeito adverso em decorrência da utilização do OGM, o vetor pB2/35SAcK foi submetido à digestão com a enzima de restrição *PvuI* antes da inserção no vegetal, para fragmentar o gene *bla*, e assim, remover qualquer possibilidade de expressão de sua característica. O cassete de expressão do gene *pat* contém os seguintes elementos reguladores para sua expressão: 1) Sequência promotora 35S (região promotora constitutiva do vírus do mosaico da couve-flor); 2) Sequência codificadora do gene *pat* (versão sintética do gene *pat* de *Streptomyces viridochromogenes*, apresentando 84,7% de homologia com a sequência original); 3) Sequência terminadora T35S (região terminadora do vírus do mosaico da couve-flor; sinaliza término da transcrição do gene *pat*).

Para demonstrar a estabilidade dos insertos presentes na soja FG72 x A5547-127, foram realizadas análises de *Southern blot* em amostras de DNA extraídas de plantas individuais do Evento combinado FG72 x A5547-127 e de seus parentais. Duas sondas foram utilizadas para demonstrar a estabilidade do locus transgênico do parental FG72. A primeira sonda corresponde à sequência de T-DNA do plasmídeo pSF10 e detecta o fragmento de integração 5', um ou dois fragmentos internos, dependendo da enzima de restrição utilizada, e a região 3' do fragmento de integração do FG72. A segunda sonda corresponde à região promotora Ph4a748B do vetor pSF10 e detecta a região 3' da região translocada do FG72, o fragmento de integração 5' e um fragmento interno do FG72. Todas as amostras de plantas individuais do Evento Combinado, após hibridação com ambas as sondas, apresentaram fragmentos de tamanho comparável àqueles obtidos para o parental FG72, confirmando, assim, a estabilidade estrutural e o mesmo posicionamento do inserto da linhagem parental no Evento combinado.

A sonda utilizada para avaliar a estabilidade do Evento A5547-127 foi o vetor pB2/35SAcK linearizado, que detecta a região integrante 5', um fragmento interno e a região 3' do locus de TDNA inserido. Todas as amostras obtidas de plantas individuais do Evento FG72 x A5547-127 apresentaram fragmentos de tamanho comparável àqueles obtidos no Evento parental A5547-127 após hibridização com a referida sonda, comprovando a estabilidade da linhagem parental e a mesma localização do

inseto no genoma do Evento combinado. Nenhuma evidência indica que a combinação entre os parentais através dos cruzamentos tenha alterado a estrutura dos insertos e o número de cópias na soja FG72 x A5547-127.

As amostras de grãos de soja utilizadas para as análises de expressão de proteínas foram provenientes dos ensaios sob Liberação Planejada no Meio Ambiente, Processo CTNBio n°. 01200.001041/2012-71, conduzidos em três localidades: Poxoréu (MT), Água Santa (RS) e Taquarivaí (SP). O Evento combinado FG72 x A5547-127, apresentou níveis de expressão detectáveis para as três referidas proteínas, tanto no Evento pulverizado com herbicidas quanto no Evento onde nenhuma aplicação com herbicidas foi realizada. A expressão das proteínas 2mEPSPS e PAT no Evento FG72 x A5547-127 foi similar aos valores detectados nos parentais isolados. Tanto os desvios padrões como o intervalo de dados verificados para todos os tratamentos demonstram que os valores se sobrepõem. Para o Evento FG72, o teor de 2mEPSPS nos grãos foi de $139 \pm 38 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 91.7 - 223) de matéria fresca (MF) para as amostras não pulverizadas e de $150 \pm 17 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 118 - 169) de MF para as amostras pulverizadas. Os valores correspondentes para o evento combinado foram: $119 \pm 33 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 81.4 - 185) de matéria fresca (MF) para as amostras não pulverizadas e de $155 \pm 38 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 99.4 - 234) de MF para as amostras pulverizadas.

No caso da expressão da proteína HPPDW336, os dados quantificados estavam muito próximos ao limite de detecção, tanto para o Evento combinado como para o parental FG72. Para o Evento FG72, o teor HPPDW336 nos grãos foi de $0.706 \pm 0.17 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 0.503 - 1.00) de matéria fresca (MF) para as amostras não pulverizadas e de $0.969 \pm 0.34 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 0.640 - 1.67) de MF para as amostras pulverizadas. Os valores correspondentes para o evento combinado foram: $0.150 \mu\text{g/g}$ (limite inferior de quantificação) de MF para as amostras não pulverizadas e de $0.164 \pm 0.030 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 0.150 - 0.243) de MF para as amostras pulverizadas.

Em relação à expressão da proteína PAT, para o Evento A5547-127, o teor nos grãos foi de $11.7 \pm 3.2 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 8.18 - 17.1) de matéria fresca (MF) para as amostras não pulverizadas e de $13.1 \pm 3.3 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 9.14 - 18.7) de MF para as amostras pulverizadas. Os valores correspondentes para o evento combinado foram: $11.3 \pm 2.5 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 7.45 - 15.4) de MF para as amostras não pulverizadas e de $17.2 \pm 4.1 \mu\text{g/g}$ (intervalo: 10.2 - 22.5) de MF para as amostras pulverizadas.

Como conclusão, o estudo de expressão de proteínas indica que a combinação dos Eventos FG72 e A5547-127, através do melhoramento clássico não resulta em interações entre tais componentes.

Resultados obtidos em estudos realizados no Brasil e no exterior, utilizando ferramentas de bioinformática, ferramentas da biologia molecular, análises químicas, nutricionais, bem como avaliações fenotípicas e agronômicas, indicam que as proteínas codificadas pelos genes em questão atuam em diferentes rotas metabólicas, sobre substratos bastante específicos. Portanto, não se espera que a expressão conjunta das proteínas afete outros atributos da planta e tampouco gere efeitos adversos.

II - Aspectos relacionados à saúde humana e animal

Os dados de composição química/nutricional da soja FG72 x A5547-127 comparados com os da variedade convencional (não GM) foram obtidos de 34 amostras de sementes (3 locais x 3 tratamentos x 4 repetições - 02 parcelas perdidas) geradas em estudos de campo conduzidos sob Liberação Planejada no Meio Ambiente (Processo CTNBio n°. 01200.001041/2012-71) durante a safra 2012/13 em três localidades representativas para a cultura da soja (SP, MT e RS). Sessenta e dois componentes foram avaliados, num total de 2108 análises realizadas.

Os dados de alguns componentes não foram analisados estatisticamente porque todos os valores estavam abaixo do limite de quantificação (<LOQ) (acetil-daídina, acetil-genistina, e alguns ácidos graxos: caprílico, cáprico, láurico, tridecanóico, miristoléico, pentadecanóico, trans eláidico, trans linolelaídico, araquídico, eicosadienóico, eicosapentaenoico, heneicosanóico e lignocérico) ou porque mais de 1/3 dos resultados estavam abaixo do nível de quantificação (acetil glicitina, gliciteína,

genisteína, eicosenóico, behênico, e docosenóico. Assumiu-se que não existe diferença entre os grupos se os resultados de um componente estivessem abaixo do LOQ.

A análise estatística dos dados considerando os locais combinados não detectou diferença significativa entre o Evento FG72 x A5547-127 e a variedade convencional em 17 dos 62 componentes analisados. Diferenças significativas foram observadas para cinzas, ácido fólico, glicetina, cisteína, leucina, e 5 ácidos graxos: palmitoléico, heptadecenóico, oleico, linoléico e linolênico. Entretanto, para alguns desses componentes, a diferença estatística foi detectada em apenas 1 dos 2 pares de comparações (resultados ambíguos). Por exemplo, cinzas, ácido fólico, ácido heptadecenóico e ácido linolênico apresentaram diferença entre a variedade convencional capinada e a soja GM tratada com herbicidas, não apresentando diferença entre a variedade convencional e a soja GM, ambas capinadas. Para outros componentes, como umidade, proteína, gordura total, carboidrato total, fibra detergente ácida, ferro, magnésio, potássio, sódio, vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, alfa tocoferol, beta tocoferol, delta tocoferol, gama tocoferol, tocoferóis totais, inibidor de tripsina, daidzina, malonil daidzina, daidzeína, malonil glicetina, genistina, malonil genistina, isoflavonas totais, arginina, ácido aspártico, ácido glutâmico, histidina, lisina, metionina, serina, treonina, ácido margárico e ácido esteárico a análise dos dados dos locais combinados indicou interação significativa dos tratamentos com os locais. Portanto, para estes componentes, a análise de local por local também foi realizada para verificar se as diferenças observadas eram consistentes em todas as localidades e se os dados médios variavam além da amplitude conhecida para a espécie. A análise em detalhes pode ser vista no *Apêndice 2 do Relatório Interno nº 13-RSYTT099 (Anexos IV)*. Em resumo, os dados mostram que as diferenças não se repetiram em todas as localidades, não seguiram um mesmo padrão de resposta e, ainda, se encontravam dentro da faixa de amplitude que a literatura aponta. Possivelmente, tais variações são resultantes dos efeitos ambientais, mas em nada interferem na qualidade nutricional do produto em questão.

A estabilidade térmica, estabilidade em suco gástrico (digestibilidade) e quantidade da proteína PAT presente em frações processadas, bem como uma série de outras avaliações sobre a segurança da proteína PAT estão apresentadas no Processo 01200.003881/2008-92.

No caso das proteínas 2mEPSPS e HPPDW336, a Requerente apresentou no Processo 01200.003609/2011-16 os estudos que demonstraram a segurança deste peptídeo para o livre uso do Evento FG72. No caso dos dados de estabilidade, ficou demonstrado que a 2mEPSPS é rapidamente e completamente degradada na condição que simula o sistema gástrico, bem como no sistema intestinal. Da mesma forma, a proteína HPPD W336 foi prontamente degradada em meio de simulação gástrica (pH 1,2 em meio com enzima pepsina) em 30 segundos de incubação. Quando na presença de pancreatina e pH 7,5 (simulando sistema intestinal), a degradação total da HPPD ocorreu em menos de 0,5 minutos (Relatórios Internos BayerCropscience - Rasclé, 2009c e 2009d).

Especificamente em relação à proteína 2mEPSPS, em um amplo artigo de revisão sobre avaliação de segurança foi mostrado que a mesma não possui qualquer propriedade associada com toxinas ou alérgenos conhecidos, incluindo a falta de similaridade da sequência de amino ácidos, a rápida degradação em fluídos gástricos e intestinais simulados e nenhum efeito adverso em camundongos, após a administração intravenosa ou oral (10 ou 2000 mg/kg peso corporal, respectivamente) (HEROUET-GUICHENEY et al.,2009)

Os estudos de segurança das proteínas PAT, 2mEPSPS e HPPDW336, já foram amplamente apresentados quando da submissão dos Eventos parentais A5547-127 e FG72, nos Processos 01200.003881/2008-92 e 01200.003609/2011-16, respectivamente, conforme estudos de toxicidade apontados na tabela 32 da página 94 deste processo. Ao término dos experimentos, nenhuma anormalidade foi observada, ou qualquer evidência de toxicidade nos indivíduos tratados foi verificada durante as análises realizadas, seja por ingestão oral ou intravenosa das proteínas, mesmo nos tratamentos contendo altas doses de proteínas, indicando que as proteínas PAT, 2mEPSPS e HPPDW336 não possuem qualquer efeito adverso ou potencialmente adverso à saúde humana/animal.

III - Aspectos Ambientais

Em 2012, um ensaio conduzido nos Estados Unidos em múltiplos locais (DHARMASRI, 2013; OBERDÖRFER, 2013) teve como objetivo comparar características agrônômicas e fenotípicas do Evento FG72 x A5547-127 com seu controle convencional e com variedades comerciais. Os resultados mostraram uma performance fenotípica similar entre o Evento FG72 x A5547-127 e sua isolinha convencional para características qualitativas tais como cor de flor, formato de folha, dossel, pubescência, cor da vagem, cor de hilo e hábito de crescimento. Para a maioria das características agrônômicas (emergência, dias para florescimento, dias para maturação, produtividade, sanidade em V4-5, sanidade em R1, sanidade na maturação, acamamento) não foram detectadas diferenças estatísticas entre as plantas GM e as da isolinha não-GM. Algumas características agrônômicas e fenotípicas (como estande e altura de planta) do Evento FG72 x A5547-127 divergiram quando comparadas a sua isolinha convencional. Entretanto, todas as características agrônômicas e fenotípicas registradas para o Evento FG72 x A5547-127 foram equivalentes aos valores das variedades comerciais não-GM.

No Brasil, foram conduzidos ensaios sob Liberação Planejada no Meio Ambiente, (Processo CTNBio n°. 01200.001109/2012-12) na safra 2012/13 em quatro Estados representativos para a cultura da soja (SP; GO; RS e MT) com o objetivo de avaliar desenvolvimento, reprodução e sobrevivência da soja FG72 x A5547-127, em comparação à variedade convencional não-GM. As características avaliadas nos estágios fenológicos R2, R3-R4, R5-R6 e R6-R7 foram: vigor da cultura, estande (número de plantas/parcela), teor de clorofila nas folhas e altura das plantas. As características avaliadas no período pré-colheita foram: número de vagens sadias, número de vagens sem sementes e total de vagens. As características avaliadas no período pós-colheita foram: umidade dos grãos, peso de 100 sementes e produtividade. Na maioria das comparações realizadas não foram detectadas diferenças significativas. As diferenças significativas observadas entre a soja geneticamente FG72 x A5547-127 e a variedade convencional não se repetiram em todas as localidades, demonstrando um possível efeito de fatores ambientais nas características agrônômicas avaliadas. Por exemplo, em Água Santa (RS), para os parâmetros avaliados no período pós-colheita, foram observadas diferenças significativas apenas para produtividade (maior média observada na soja GM). A mesma diferença não se repetiu em nenhuma das outras localidades. Assim, os resultados deste estudo corroboram a afirmação de que a modificação não afeta a capacidade de sobrevivência, desenvolvimento e produtividade da soja.

De acordo com os dados levantados em condições de cultivo a campo tanto no Brasil quanto nos EUA, a inserção dos genes *2mepsps*, *hppdPfw336*, e *pat*, não interferem/alteram o comportamento ambiental das plantas geneticamente modificadas derivadas do Evento FG72 x A5547-127. Os novos atributos, ao permitirem o uso seletivo de herbicidas, não inserem quaisquer vantagens competitivas ou adaptativas ao indivíduo. O fenótipo diferenciado das plantas só é percebido nas condições de manejo de invasoras quando se utiliza os herbicidas Glifosato, Isoxaflutole ou Glufosinato de Amônio, onde apenas as plantas daninhas sofrem as injúrias causadas pelo produto.

Os genes *2mepsps*, *hppdPfw336* e *pat* são específicos em atribuir seletividade aos herbicidas glifosato, isoxaflutole e glufosinato de amônio, respectivamente, e não apresentam qualquer relação com formação de estruturas de reprodução. Estas informações já foram amplamente apresentadas e analisadas pela CTNBio quando da submissão dos Eventos A5547-127 e FG72.

Ainda, as avaliações de monitoramento pós-colheita realizadas nos ensaios a campo no Brasil, sob Liberação Planejada no Meio Ambiente (Processos CTNBio n°.01200.001456/2010-83, 01200.002897/2011-83, 01200.001109/2012-12, 01200.001041/2012-71, 01200.001514/

2012-31 e 01200.001707/2012-91) demonstraram que o Evento FG72 x A5547-127 não persiste no ambiente e não se tornou uma espécie mais agressiva ou invasiva, e também não apresentou características com aspectos de planta daninha, tampouco permitiu que as plantas espontâneas de soja pudessem ser mantidas no ambiente por anos consecutivos de cultivo ou competissem com a cultura sucessora.

A soja cultivada (*Glycine max*) cruza naturalmente com a espécie silvestre *Glycine soja*, porém, esta só ocorre naturalmente na China, Coréia, Japão, Taiwan e Rússia e não é encontrada no meio ambiente

do Brasil. Dessa forma, a probabilidade de transferência da característica de seletividade aos herbicidas glifosato, isoxaflutole e glufosinato de amônio (introgressão dos genes *2mepsps*, *hppdPfw336*, e *pat*, respectivamente) para seus parentes ou para outras espécies por fluxo gênico no Brasil, é extremamente improvável de acontecer.

Vale considerar ainda que, por ser uma espécie domesticada, a soja é altamente dependente da espécie humana para sua sobrevivência e não haveria razões científicas para a sobrevivência de plantas fora de sistemas agrícolas. Além disso, na ausência de pressão seletiva (uso do herbicida), a expressão do gene inserido não confere vantagem adaptativa à planta.

No Brasil, foram conduzidos ensaios sob Liberação Planejada no Meio Ambiente (Processo CTNBio n°. 01200.001109/2012-12), na safra 2012/13 em quatro Estados representativos para a cultura da soja (SP; GO; RS e MT) com o objetivo de avaliar se a capacidade de associação simbiótica das bactérias fixadoras de N₂ do gênero *Bradyrhizobium* é alterada no cultivo de soja geneticamente modificada Evento FG72 x A5547-127, comparativamente ao cultivo da soja convencional (não modificada). Em cada localidade o ensaio foi composto de seis tratamentos replicados três vezes (total de 18 parcelas), distribuídos em blocos casualizados. A avaliação de nodulação não foi realizada no ensaio de Água Santa/RS, devido a um longo período de estresse hídrico que comprometeu a germinação e consequentemente a capacidade de associação do microrganismo com o sistema radicular. As análises dos resultados obtidos Paulínia/SP e Trindade/GO não detectaram diferenças significativas, demonstrando que a modificação genética e a combinação de Eventos realizada através do melhoramento convencional para obtenção do Evento combinado FG72 x A5547-127, não interferem na capacidade de associação simbiótica entre a bactéria *Bradyrhizobium* e as plantas de soja, não impactando, portanto, na fixação de nitrogênio.

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”.

Conclusão:

Considerando que:

b) A segurança do Evento FG72 x A5547-127 foi avaliada em diversos estudos realizados no Brasil e no exterior, a fim de demonstrar que a combinação dos Eventos através do melhoramento tradicional não resulta em linhagens significativamente distintas daquelas as quais são originadas (Eventos parentais) e nem das variedades convencionais. Assim, a segurança da soja FG72 x A5547-127 está demonstrada não só pelas informações previamente apresentadas para os Eventos isolados, bem como, através de análises que comprovaram ausência de qualquer interação entre os insetos presentes nesta linhagem;

c) A segurança da proteína PAT, codificada pelos genes homólogos *pat* ou *bar* (isolados das bactérias *Streptomyces viridochromogenes* ou *Streptomyces hygrosopicus*), já foi amplamente demonstrada e apresentada para os Eventos isolados T25 (milho), LLCotton25 (algodão), A2704-12, A5547-127 (soja), bem como para os Eventos combinados GHB614 x T304- 40 x GHB119 e GHB614 x LLCotton25, aprovados para uso comercial no Brasil. Aprovações de segurança já foram concedidas para, no mínimo, 43 Eventos de transformação distintos, que expressam a proteína PAT, de cinco espécies de plantas (soja, milho, canola, beterraba, algodão), em diferentes países, (CERA, 2015);

d) A soja A5547-127 ((LibertyLink®) já foi APROVADA em 17 países (Argentina, Austrália, Brasil, Canadá, China, Colômbia, União Europeia, Japão, Coreia do Sul, Malásia, México, Filipinas, Rússia, Singapura, Taiwan, Estados Unidos e Uruguai) seja para plantio, ração animal ou alimentação humana (CERA, 2015);

e) A proteína 2mEPSPS encontra-se presente no Evento GHB614 de algodão, e nos Eventos combinados GHB614 x LLCotton25 e GHB614 x T304-40 x GHB119, cuja segurança foi avaliada por essa Comissão Técnica, sendo todos estes Eventos aprovados para uso comercial no Brasil;

f) As proteínas 2mEPSPS e HPPDW336 são expressas na soja geneticamente modificada Evento GT72, cuja segurança já foi avaliada por esta Comissão Técnica, tendo sido aprovada para uso comercial no Brasil;

g) A soja FG72 já foi APROVADA em 10 países (Austrália, Brasil, Canadá, Coreia do Sul, Estados Unidos da América, Filipinas, Japão, Malásia, México, Nova Zelândia e Taiwan) seja para plantio, ração animal ou alimentação humana (ISAAA, 2015);

h) Os resultados adicionais fornecidos na documentação encaminhada para a solicitação de liberação do Evento FG72 x A5547-127 confirmam a segurança de um processo que combina produtos já previamente determinados como seguros;

Diante do exposto e considerando os critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco de matérias-primas geneticamente modificadas é possível concluir que a soja FG72 x A5547-127 é tão segura quanto seus equivalentes convencionais. No âmbito das competências que lhe são atribuídas pelo art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que o pedido atende às normas e às legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal, e concluiu que a soja FG72 x A5547-127 é substancialmente equivalente à soja convencional, sendo seu consumo seguro para a saúde humana e animal. No tocante ao meio ambiente, a CTNBio concluiu que a soja FG72 x A5547-127 não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica à da soja convencional.

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 Lei 11.460, de 21 de março de 2007.

A análise da CTNBio considerou os pareceres emitidos pelos membros da Comissão; documentos aportados na Secretaria Executiva da CTNBio pela requerente; resultados de liberações planejadas no meio ambiente e textos relacionados. Foram também considerados e consultados estudos e publicações científicas independentes da requerente e realizados por terceiros, bem como as análises já realizadas em outros países pelos respectivos órgãos de regulamentação de organismos geneticamente modificados.

Plano de Monitoramento:

A CTNBio considerou que a metodologia a ser utilizada no plano de monitoramento proposto é adequada para buscar qualquer nova informação decorrente do uso intensivo da soja FG72 x A5547-127. Entretanto, como a resistência de plantas a herbicidas nas áreas de cultivo tem sido cada vez mais frequente devido a vários fatores, como a falta de manejo ou o uso indevido da tecnologia, através do cultivo de plantas com o mesmo gene de resistência em safras seguidas, ou por falta de conhecimento do produtor, é necessário que a requerente considere:

1. O questionário a ser aplicado deve incluir questões específicas sobre a **comunidade de plantas invasoras** e eventual **desenvolvimento de resistência aos herbicidas nas plantas invasoras**. Será importante que este aspecto seja também considerado nas observações a serem conduzidas pelos Técnicos da Bayer nas lavouras visitadas. Tais dados deverão ser incluídos nos relatórios.

2. Deverá ser apresentado um programa de gestão a ser desenvolvido junto aos clientes, no qual a empresa deverá estabelecer medidas eficazes para o manejo da resistência, a fim de evitar a seleção de plantas resistentes e garantir o uso responsável do produto;

Parecer Final:

A CTNBio, após apreciação do pedido de parecer para liberação comercial de soja geneticamente modificada, concluiu pelo seu DEFERIMENTO, nos termos deste parecer técnico. A requerente solicitou à CTNBio parecer técnico para a liberação comercial da soja geneticamente modificada denominada Eventos FG72 x A5547-127 expressando a característica de tolerância aos herbicidas glifosato, glufosinato de amônio e isoxaflutole nos termos da Resolução Normativa no 05 de 12 de Março de 2008. O monitoramento deverá ser apresentado pela empresa de acordo com as normas contidas na Resolução Normativa Nº 9, de 02 de dezembro de 2011. A análise da CTNBio considerou os pareceres emitidos pelos membros da Comissão, documentos aportados na Secretaria Executiva da CTNBio pela requerente, resultados de liberações planejadas no meio ambiente e textos relacionados. Foram também considerados e consultados estudos e publicações científicas independentes da solicitante e realizados por terceiros.

REFERÊNCIAS

- CERA – Center for Environmental Risk Assessment. <http://www.cera-gmc.org/GMCropDatabase> (Acesso em 26/ Nov/ 2015).
- CHABOUTE M., CHAUBET N., PHILIPPS G., EHLING M., GIGOT C. (1987). Genomic organization and nucleotide sequences of two histone H3 and two histone H4 genes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, v. 8, p. 179-191.
- CHAUBET N., CLEMENT B., GIGOT C. (1992). Genes encoding a histone H3.3-like variant in *Arabidopsis* contain intervening sequences. *Journal of Molecular Biology*, v. 225, p. 569-574.
- DHARMASRI, C. FG72 x A5547-127 Soybean – Production, Agronomics, composition, and Protein Expression Analyses of Field Grown Samples. Bayer CropScience, USA, 2013. Internal Report (M-464841-01-1), 903p.
- HEROUET-GUICHENEY, C.; ROUQUIÉ, D. FREYSSINET, M.; CURRIER, T.; MARTONE, A.; ZHOU, J.; BATES, E.E.M.; FERULLO, J-M. ; HENDRICKX, K. ; ROUAN, D. (2009) Safety evaluation of the double mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) from maize that confers tolerance to glyphosate herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 54, 143-153.
- ISAAA – International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications. <http://www.isaaa.org/gmaprovaldatabase> (Acessado em: 26/ Nov/2015)
- KENNEL P. (2003) PAT (Phosphinothricin Acetyltransferase) protein derived from *pat* gene acute toxicity by Intravenous injection in the Mouse. Bayer CropScience. Relatório Interno M-218224-01-1, 51p.
- LEBRUN, M.; LEROUX, B.; SAILLAND, A. (1996). Chimeric gene for the transformation of plants. US Patent US5510471 (23-APRIL-1996). RHONE POULENC AGROCHIMIE (FR). 1996.
- OBERDÖRFER, R. Comparative Analysis of Composition, and Agronomic and Phenotypic Characteristics for Glyphosate, Isoxaflutole and Glufosinate Tolerant Soybean FG72 X A5547-127. Bayer CropScience, Germany, 2013. Internal Report (M- 469555-02-1), 238p.
- PILACINSKI, W.; CRAWFORD, A.; DOWNEY, R.; HARVEY, B.; HUBER, H.; HUNST, P.; LAHMAN, L.K.; MACINTOSH, S.; POHL, M.; RICKARD, C.; TAGLIANI, L.; WEBER, N. (2011) Plants with genetically modified events by conventional breeding: An assessment of the need for additional regulatory data. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1-7.
- RASCLE, J.B. (2009a) HPPD W336 protein. Acute toxicity by oral gavage in female mice. Bayer CropScience, Internal Report M453284-01-1, 95p.

- RASCLE, J.B. (2009b) HPPD W336. Acute toxicity by intravenous injection in mice. Bayer CropScience, Internal Report, 47p.
- RASCLE, J.B. (2009c) HPPDW336 Protein in vitro digestibility study in human simulated intestinal fluid. Bayer CropScience, France, Internal Report (M-356198-01-1), 54p.
- RASCLE, J.B. (2009d) HPPDW336 Protein in vitro digestibility study in human simulated gastric fluid. Bayer CropScience, France, Internal Report (M-356196-01-1), 59p.
- ROUQUIE, D. (2006) 2mEPSPS protein. Acute toxicity by oral gavage in mice. Bayer CropScience (Internal Report. M-276952-01-1), 64p.
- ROUQUIE, D. 2mEPSPS protein. Acute toxicity by intravenous injection in mice. Internal Report, Bayer CropScience, 2008, 51p.

Deliberação

A CTNBio decidiu por 18 (dezoito) votos favoráveis pela aprovação, 02 (dois) votos contrários: Dr. Paulo Kageyama e Dr. Rogério Magalhães.

Data: 14/12/2015

Edivaldo Domingues Velini
Presidente da CTNBio

Assessor: Orlando Cardoso