



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

PARECER TÉCNICO Nº 5821/2018- RETIFICADO

Processo nº: 01200.005695/2015-17

Data de Protocolo: 15/12/2016

Prótons: 79027/15 (ostensivo) e 79235/15 (sigiloso).

Requerente: Du Pont do Brasil S.A - Divisão Pioneer Sementes

CNPJ: 61.064.929/0043-28

CQB: 13/97

Endereço: Unidade de Pesquisa e Beneficiamento de Brasília, Rod. DF 250, km 20, Núcleo Rural Santos Dumont, lote 50, Caixa Postal 083, 70.310-970, Planaltina, DF.

Título da proposta: Liberação comercial de eventos de soja geneticamente modificada DP-305423-1, com perfil de ácidos graxos modificados e da combinação de eventos DP-305423-1 x MON 04032-6.

Descrição do OGM: soja geneticamente modificada DP-305423-1, com perfil de ácidos graxos modificados e da combinação de eventos DP-305423-1 x MON 04032-6.

Resolução Normativa nº05/2008

Finalidade (objetivo): importação e utilização da soja e subprodutos dos eventos geneticamente modificado DP-305423-1 e da combinação de eventos DP-305413-1 X MON-04032-6 em produtos utilizados na alimentação humana e uso em rações animais no Brasil.

PARECER TÉCNICO

I. Identificação do OGM

Designação do OGM: soja geneticamente modificada DP-305423-1, com perfil de ácidos graxos modificados e da combinação de eventos DP-305423-1 x MON 04032-6.

Espécie: *Glicine max* L.

Descrição do OGM

Características inseridas

Trata-se de um pedido de liberação comercial (RN5) da soja geneticamente modificada DP-305423-1 e da combinação de eventos DP-305423-1 x MON 04032-6. O evento DP-305423-1 quando processada, produz um óleo com um perfil de ácidos graxos modificados e para conferir tolerância ao herbicida glifosato este evento DP-305423-1 foi cruzado com o evento MON Ø4Ø32-6 por meio de métodos de melhoramento clássico, gerando assim o produto combinado DP-3Ø5423-1 x MON-Ø4Ø32-6. Nenhuma nova modificação genética foi introduzida nesta combinação DP-305423-1 x MON 04032-6.

A soja DP-305423-1 foi obtida por introdução de um fragmento do gene *gm-fad2-1a* e o gene *gm-hraa* no genoma da soja. O fragmento do gene *gm-fad2-1* inserido faz parte da região de codificação do gene 1 da desaturase ômega-6 de soja (FAD2-1) está sob controle do promotor (*KTi3*) do gene 3 inibidor de tripsina

Kunitz preferido pela semente da soja. Este fragmento não codifica uma proteína funcional. A transcrição do fragmento do gene *gm-fad2-1* (obtido de soja) atua suprimindo a transcrição da desaturase ômega-6 endógena, resultando em um fenótipo de elevado teor de ácido oleico. A soja DP-305423-1 apresenta uma quantidade de ácido oleico aumentado e ácidos linoléico e linolênico diminuídos. Quando processada, produz um óleo altamente estável e mais saudável, se comparado ao óleo de soja convencional. O gene *gm-hra* (obtido de soja) está sob o controle do promotor S-adenosil-L-metionina sintase (SAMS) o qual é constitutivo na soja. Este gene codifica a proteína GM-HRA, uma versão otimizada da acetolactato sintase da soja (ALS), a qual é utilizada como marcador de seleção durante o processo de transformação, pois pode conferir tolerância a herbicidas inibidores da ALS (sulfoniluréias, imidazolinonas e etc).

A soja MON 04032-6 apresenta o gene *cp4 epsps* (5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintase) de *Agrobacterium sp.* CP4 que está sob controle do promotor 35S do vírus do mosaico da couve-flor (CaMV). Este gene que confere tolerância ao herbicida glifosato.

Método de introdução da(s) característica(s)

Dois fragmentos lineares de DNA, PHP19340A que contém o cassete com fragmento do gene *gm-fad2-1*, e o PHP17752A que contém o cassete do gene *gm-hra* (descrito nas Figuras 5.1 e 5.2 e as Tabelas 5.1 e 5.2) foram usados para transformar a soja “Jack” para produzir a soja DP-305423-1 via co-bombardeamento de micropartículas. O plasmídeo PV-GMGT04 que contém o cassete do gene *cp4 epsps* foi usado para produzir a soja MON 04032-6 através de bombardeamento de micropartículas. A transformação da soja MON 04032-6 resultou na inserção do gene *cp4 epsps* isolado da cepa CP4 da bactéria de solo comum *Agrobacterium tumefaciens*. Como resultado da transformação, a soja MON 04032-6 expressa a proteína CP4 EPSPS que confere tolerância ao herbicida glifosato (CTNBio # 01200.002402/9860; Despacho nº. 54, de 29 de setembro de 1998). Nenhum outro vetor foi usado para produzir o evento combinado DP-305423-1 x MON 04032-6, uma vez que ela foi obtida por meio de cruzamento clássico (melhoramento convencional) entre os eventos de soja DP-305423-1 e MON 04032-6.

Figuras e Tabelas com uma descrição completa dos elementos genéticos no Fragmento de DNA PHP19340A linear 2924 pb, usado na cotransformação para obter a soja 305423 foram apresentadas no processo e são informações confidenciais.

Objetivo Benefícios do OGM

As variedades de soja contendo os eventos 305423x40-3-2 e 305423 trarão benefícios para os setores de alimentos e de óleo industrial, uma vez que elas fornecerão sementes de soja com níveis aumentados de ácidos graxos (oleicos) monoinsaturados e níveis reduzidos de ácidos graxos poli-insaturados (ácido linoleico e linolênico). O óleo processado das sojas 305423x40-3-2 e 305423 também fornecerão aos consumidores uma opção de óleo de soja mais saudável. Os serviços de alimentação e os processadores de alimentos beneficiar-se-ão da disponibilidade de um óleo de soja altamente estável, adequado para utilização em frituras, sem a necessidade de hidrogenação. Além disso, o óleo naturalmente estável oxidativamente, fornece menos rancidez e apresenta prazo de validade maior tanto para o óleo em si como para a utilização final do produto. Portanto, o óleo derivado das sojas 305423x40-3-2 e 305423 será usado, principalmente, em substituição aos óleos alimentícios comerciais em *spray* e de fritura.

II – Informações Gerais

Equivalência molecular dos eventos das sojas 305423 x 40-3-2 para 305423 e 40- 3-2

A empresa informa que foi realizada uma análise molecular detalhada para confirmar que o número de cópias, a estrutura e a organização dos insertos presentes na soja 305423x40-3-2 são equivalentes àqueles presentes nas respectivas sojas 305423 e 40-3-2 (eventos individuais).

A análise de Southern blot foi utilizada para confirmar a equivalência molecular e o número idêntico de cópias do DNA inserido presente na soja 305423 àquelas presentes na soja 305423x40-3-2. Resultados das análises de *Southern blot* apresentadas confirmam a equivalência molecular e número idêntico de cópias do DNA inserido presente na soja 305423x40-3-2 àquela presente na soja 305423 e na soja 40-3-2.

Com base nas análises *Southern blot* e conforme confirmado pelos dados de sequência, ficou determinado que múltiplas cópias, intactas e truncadas, do PHP19340A foram inseridas no genoma da soja DP-305423-1, compreendendo oito cópias do promotor KTi3, sete cópias do fragmento *gm-fad2-1* e cinco cópias do terminador KTi3. Duas cópias do PHP19340A estão íntegras a partir do sítio de restrição *BamH I* até o sítio *Spe I*, e hibridizam com todas as três sondas do cassete. Três cópias do PHP19340A apresentam algum tipo de truncamento, perdendo o sítio da *BamH I*, mas contêm porções de todos os três elementos de cassete. Além disso, estão presentes duas cópias do PHP19340A mantendo somente o promotor KTi3 com o fragmento *gm-fad2-1*, bem como uma cópia do promotor KTi3 associada a um pequeno fragmento não funcional da estrutura (*backbone*). Para o fragmento PHP17752A, um único cassete intacto do gene *gm-hra* foi inserido dentro do genoma da soja DP-305423-1 e foi confirmado por dados de sequenciamento.

DNA inserido na soja 305423

A caracterização da sequência do DNA inserido na soja 305423 foi consistente com os dados de hibridização por *Southern blot* observados. Mapas e descrições esquemáticas das regiões do DNA inserido na soja 305423 são fornecidos nas Figuras apresentadas nos anexos. A caracterização de sequência confirma que a soja 305423 contém quatro inserções que compreendem:

Região de inserção 1: um fragmento PHP19340A truncado com um terminador KTi3 truncado e um fragmento de gene *gm-fad2-1* intacto e um promotor KTi3 intacto, um fragmento PHP19340A intacto, um fragmento PHP17752A intacto, um fragmento PHP19340A truncado e um promotor KTi3 intacto e um fragmento de gene *gm-fad2-1* truncado, e um fragmento PHP19340A truncado com um promotor KTi3 truncado e um fragmento de gene *gm-fad2-1* truncado;

Região de inserção 2: um fragmento PHP19340A truncado com um promotor KTi3 truncado e com um fragmento de gene *gm-fad2-1* intacto e um terminador KTi3 intacto;

Região de inserção 3: uma cópia truncada do promotor KTi3 com um fragmento 495 pb não funcional da estrutura do plasmídeo; e

Região de inserção 4: dois fragmentos de PHP19340A truncados em uma configuração repetida invertida, ambos com um promotor KTi3 truncado e um fragmento de gene *gm-fad2-1* intacto e um terminador KTi3.

As análises *Northern* demonstram que nenhuma transcrição do gene endógeno FAD2-1 foi detectada na folha das plantas das sojas 305423x40-3-2 e 305423. A transcrição do gene FAD2-1 endógeno é efetivamente silenciada na semente da soja 305423x40-3-2 e 305423 quando comparada à semente da soja controle não GM. A análise composicional da semente da soja 305423x40-3-2 confirma que o silenciamento foi efetivo da dessaturase ômega-6 endógena (FAD2-1) na semente da soja 305423x40-3-2 resultando no fenótipo previsto de alto teor oleico.

As análises *Northern blot* também confirmaram que o nível de expressão das proteínas GM-HRA e CP4 EPSPS na semente de soja 305423x40-3-2 são similares ao nível de expressão dessas proteínas nas sementes das sojas 305423 e 40-3-2, respectivamente.

Estudos também foram realizados para avaliar os níveis de expressão das proteínas GM-HRA e CP4 EPSPS nas sojas 305423x40-3-2, 305423 e 40-3-2. Um estudo de campo foi realizado durante a safra de 2005 em seis locais de campo na América do Norte para determinar o nível de expressão das proteínas GM-HRA e CP4 EPSPS nas sementes das sojas 305423x40-3-2, 305423 e 40-3-2 (Apêndices 5 e 6). Cada local onde o estudo de campo foi conduzido continha as sojas 305423x40-3-2, como também, as sojas 305423 e 40-3-2. Os níveis de expressão das proteínas GM-HRA e CP4 EPSPS foram determinados usando-se um Ensaio Imunossorvente Ligado a Enzima (ELISA) específico, desenvolvido para cada proteína. Um relatório detalhado foi apresentado com o resultado desses estudos. O nível de expressão da proteína GM-HRA na semente da soja 305423x40-3-2 é similar ao nível de expressão da proteína GM-HRA na semente de soja 305423. Da mesma forma a expressão da proteína CP4 EPSPS na semente de soja 305423x40-3-2 é similar ao nível de expressão da proteína CP4 EPSPS na semente de soja 40-3-2.

Métodos gerais e específicos de detecção do OGM

A empresa não descreveu nenhuma metodologia de detecção para esse OGM, apenas direcionou para o site que contém essas informações. No endereço eletrônico citado, encontra-se o protocolo de PCR real time, com a descrição dos primers para identificação dos OGMs.

Padrões de herança genética

A análise por *Southern blot* das gerações T4, T5 e F2 da soja 305423, apresenta resultados consistentes de hibridização com as sondas gm-fad2-1 e gm-hra, e confirma a estabilidade da herança do DNA inserido durante as fases de melhoramento da soja. A fim de determinar se a soja 305423 segue padrões típicos de herança mendeliana de um único locus, foram analisados 100 indivíduos segregantes de F2 por cromatografia gasosa (CG) quanto ao traço de elevado teor oleico, e por PCR evento-específica da soja 305423 para confirmar a presença do DNA inserido. Um resumo dos resultados é apresentado no processo (Apêndice 2).

Efeitos pleiotrópicos e epistáticos não foram observados nos estudos de campo. Para examinar a hipótese de que as modificações genéticas (por exemplo, transformações) das sojas 305423x40-3-2 e 305423 resultaram em efeitos pleiotrópicos e epistáticos, conforme elas se relacionam às alterações não intencionais na planta, as comparações foram realizadas entre a soja GM e sua equivalente não GM. Os dados agrônômicos foram obtidos a partir de ensaios de campo realizados na América do Norte durante a safra 2005. Uma descrição completa dos experimentos de ensaios de campo, incluindo dados de semeadura, condições climáticas e de cultivo durante o cultivo, época da colheita e as condições durante o armazenamento do material colhido foram apresentados.

Com base em dados morfoagronômicos a partir das sojas controle não GM, 305423x40-3-2 e 305423 cultivadas em vários locais, não se observou indicações de efeitos pleiotrópicos ou epistáticos. Nenhuma alteração não-intencional nas características agrônômicas ou composicionais foram identificadas.

III - Aspectos relacionados à saúde humana e dos animais

A soja é cultivada como uma cultura comercial em mais de 35 países no mundo todo. Os maiores produtores são EUA, Argentina, Brasil e China (OECD, 2000). Não existem espécies de plantas selvagens no Brasil que sejam sexualmente compatíveis com a soja. Os métodos de produção e manufatura aplicados à soja são bem conhecidos e têm uma longa história de uso seguro (OECD, 2000). A soja 305423x40-3-2 será submetida a métodos existentes de produção e manufatura usados para soja comercial. Não está previsto nenhum novo método de produção e manufatura.

O uso da soja não processada está limitado somente à ração animal e não é utilizada para uso alimentar humano (OECD, 2001). Antes do processamento da soja, a mesma é classificada, limpa, seca a cerca de 10% de umidade, e triturada para remover a casca. A casca da soja é usada principalmente na ração animal e pode também ser processada para produzir aditivos de fibra, usados na fabricação de pães, cereais e salgadinhos. Depois de descascados, os grãos são completamente envoltos em flocos de gordura que podem ser utilizados na alimentação animal ou transformados em farinha integral de gordura para uma variedade de usos comerciais de alimentos.

O óleo de soja cru é extraído a partir destes flocos de gordura integrais. O óleo de soja cru é então submetido ao processo de degomagem para separar a lecitina crua do óleo. O óleo de soja extraído é então mais refinado e utilizado para consumo na alimentação humana, em muitas aplicações. O óleo de soja também pode ser usado em aplicações técnicas ou industriais.

Após o óleo ser extraído, um produto essencialmente isento de óleo, conhecido como flocos de soja desengordurados, é então obtido. Os flocos de soja desengordurados podem ser usados para produzir comidas de soja desengordurada utilizados na ração animal, e também usados como ingrediente base numa variedade de produtos de proteína de soja para consumo humano, incluindo farinha de soja, concentrados de soja e isolados de soja. Não está previsto que o consumo de óleo de soja mudaria com a disponibilidade de óleo de soja a partir das sojas 305423x40-3-2 e 305423, a não ser, eximir a necessidade de hidrogenização.

Para avaliar os possíveis efeitos adversos da ingestão do OGM, uma dose única da substância teste GMHRA diluída em água foi administrada via sonda oral a grupos de 5 camundongos Crl:CD(ICR) machos e 5 fêmeas, em jejum, numa dose de 2.000 mg/kg. Isso corresponde a uma exposição, por animal, de pelo menos

436, mas inferior a 582, mg/kg de proteína recombinante GM HRA. A albumina de soro bovino foi administrada em uma dose única de 2.000 mg/kg, em água ou só veículo (água), via sonda oral a dois grupos de controle, cada um consistindo de 5 camundongos machos e 5 fêmeas, em jejum. Os camundongos foram observados para mortalidade, efeitos do peso corporal e sinais clínicos de toxicidade sistêmica durante 14 dias após a dosagem. Os camundongos foram sacrificados, e então realizados exames patológicos completos para detectar as evidências macroscópicas observáveis dos danos aos órgãos, ou aos tecidos, ou alguma disfunção. Todos os camundongos sobreviveram até a data do sacrifício previsto no 14º dia. Não foram observados sinais clínicos de toxicidade sistêmica ou de perda de peso corporal relacionada à substância de teste em quaisquer camundongos. Os camundongos não apresentaram lesões macroscópicas na necropsia.

Nas condições deste estudo, a administração da substância de teste recombinante GM-HRA para camundongos machos e fêmeas de uma dose de pelo menos 436 mg/kg na dose de 2.000 mg/kg não produziu sinais clínicos de toxicidade, perdas de peso corporal, lesões macroscópicas ou mortalidade, relacionados à substância de teste.

As diferenças na composição química e nutricional foram avaliadas pela comparação da composição das sementes da soja 305423 (pulverizadas com duas aplicações sequenciais de herbicidas inibidores da ALS) e da soja controle não GM com background genético comparável. Os dados da composição foram obtidos a partir de ensaios de campo realizados em seis locais nos EUA e Canadá durante a Safra de 2005. Uma descrição completa dos experimentos de ensaios de campo, incluindo dados de semeadura, condições climáticas e de cultivo durante o cultivo, época da colheita e as condições durante o armazenamento do material colhido, é fornecida nos relatórios do estudo apresentados pela requerente.

As análises composicionais incluíram centesimais (proteína bruta, gordura total, ADF, fibra bruta, NDF, cinzas e carboidratos), minerais (cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio, sódio e zinco), ácidos graxos (ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido pentadecanoico, ácido pentadecenoico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido heptadecanoico, ácido heptadecenoico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, (9,15) isômero do ácido linoleico, ácido linolênico, ácido γ -linolênico, ácido araquídico, ácido eicosenoico, ácido eicosadienoico, ácido eicosatrienoico, ácido araquidônico, ácido behênico, ácido erúxico e ácido lignocérico), aminoácidos (metionina, cistina, lisina, triptofano, treonina, isoleucina, histidina, valina, leucina, arginina, fenilalanina, glicina, alanina, ácido aspártico, ácido glutâmico, prolina, serina e tirosina), vitaminas (vitamina B1, vitamina B2, ácido fólico, α -tocoferol, β -tocoferol, γ tocoferol, δ -tocoferol, tocoferóis totais), isoflavonas (genistina, genisteína, malonil-genistina, acetil-genistina, daidzina, daidzeína, malonil-daidzina, acetildaidzina, glicetina, gliciteína, malonil-glicetina e acetil-glicetina), oligossacarídeos (sacarose, estaquiose e rafinose), metabólitos secundários e antinutrientes (coumestrol, lectinas, ácido fítico e inibidor de tripsina).

Os resultados das análises composicionais demonstram que as sementes da soja 305423 são comparáveis às sementes da soja controle não GM com background genético comparável e à soja comercial, exceto pela composição de ácidos graxos das sementes da soja 305423 intencionalmente pretendido pela modificação genética.

As análises de ácidos graxos confirmaram que as sementes da soja 305423 tinham o fenótipo de alto teor oleico esperado, conforme esperado após a introdução do fragmento do gene *gm-fad2-1*. O valor observado para ácido oleico (C18:1) foi significativamente aumentado, enquanto valores significativamente menores foram observados para ácido linoleico (C18:2) e ácido linolênico (C18:3), e em menor grau para ácido palmítico (C16:0), entre as sementes das sojas 305423 e de controle não GM. O aumento no conteúdo de ácido oleico e a redução no conteúdo de ácido linoleico das sementes da soja 305423 estavam previstos como resultado da introdução do fragmento de gene *gm-fad2-1*. O ácido linolênico é produzido diretamente da conversão do ácido linoleico e, portanto, previa-se que, a redução do conteúdo de ácido linoleico iria causar uma redução subsequente no conteúdo de ácido linolênico na soja 305423. Apesar de o valor observado para ácido palmítico na soja 305423 ser estatística e significativamente inferior se comparado às sementes da soja controle não GM, os valores de ácido palmítico da soja 305423 estavam dentro do intervalo de tolerância estatística.

Embora o conteúdo de ácido oleico nas sojas 305423x40-3-2 e 305423 tenha sido aumentado além da variação natural, que é normalmente esperada para as sojas comerciais, não existe preocupação quanto a efeitos adversos. Este ácido é um constituinte típico da dieta humana e é consumido com segurança e

prontamente metabolizado por humanos e animais. Além disso, vários óleos vegetais que têm uma longa história de uso seguro para consumo humano apresentam um conteúdo de ácido oleico conforme observado nas sojas 305423x40 3 2 e 305423. Por exemplo, azeite de oliva, óleo de cártamo, óleo de amendoim, óleo de colza de baixo teor de ácido erúxico e óleo de girassol de alto teor oleico, todos apresentam um teor de ácido oleico, que pode alcançar 70% ou mais do total de ácidos graxos no óleo, o qual é comparável aos valores de ácido oleico contido nas sojas 305423x40 3-2 e 305423 (Codex Alimentarius Commission, 2005).

Além disso, os valores observados de dois ácidos graxos menores, o ácido heptadecanoico (C17:0) e o ácido heptadecenoico (C17:1) foram estatística e significativamente aumentados nas sementes da soja 305423 se comparados aos da soja controle não GM. Contudo, os níveis do ácido heptadecanoico e do ácido heptadecenoico presentes nas sementes da soja 305423 ainda são muito baixos; representando menos de 2,5% do conteúdo total de ácidos graxos. Além disso, o ácido heptadecanoico e o ácido heptadecenoico são constituintes típicos da dieta humana e eles são seguramente consumidos e prontamente metabolizados por humanos e animais. O ácido heptadecanoico está presente em óleos vegetais, manteiga e carne (dados da USDA, 2006 e da Pioneer). O ácido heptadecenoico está presente na carne de boi, queijo e azeite de oliva (dados da USDA, 2006 e da Pioneer). Para concluir, os níveis de C17:0 e C17:1 nas sementes da soja 305423 são comparáveis àqueles encontrados em uma dieta humana típica.

A equivalência nutricional entre a soja 305423x40-3-2 e a soja comercial e entre a soja 305423 e a soja comercial foi demonstrada em um estudo de alimentação de aves durante um período de 42 dias. Os frangos foram alimentados com dietas contendo a soja 305423x40-3-2, a soja 305423 ou a soja controle não GM de background genético comparável ou uma de três sojas comerciais não GM. A mortalidade, ganho de peso corporal, eficiência alimentar, rendimentos dos órgãos, carcaça, peito, sobrecoxa, asa e coxa e gordura abdominal dos frangos alimentados com soja 305423x40-3-2 ou 305423 foram comparados aos frangos alimentados com dietas de soja controle não GM. Os resultados sumarizados e apresentados no requerimento de liberação comercial confirmaram a segurança das sojas 305423x40-3-2 e 305423, bem como demonstraram que estas sojas são nutricionalmente equivalentes à soja controle não GM de background genético comparável, e às sojas comerciais.

A proteína GM-HRA foi avaliada para seu potencial alergênico através de: (i) avaliação do potencial de alergenicidade da origem do gene, (ii) pesquisas de homologia com alérgenos de proteínas conhecidos, (iii) estudos de digestibilidade simulados in vitro, (iv) avaliação da glicosilação e (v) avaliação da estabilidade ao calor. Os resultados obtidos confirmaram que a proteína GM-HRA não apresenta risco significativo de ser um potencial alérgeno.

A proteína ALS da soja (a proteína GM-HRA é uma versão otimizada da proteína ALS) é amplamente distribuída na natureza (Falco et al., 1985; Friden et al., 1985; Mazur et al., 1987; Reith and Munholland, 1995) e não foi caracterizada como um alérgeno da soja:

- Falta à proteína GM-HRA homologia para alérgenos com proteínas conhecidas;
- A proteína GM-HRA é rapidamente digerida no fluido gástrico simulado;
- A proteína GM-HRA não é glicosilada; e
- A proteína GM-HRA não é estável sob condições de aquecimento.

Em relação a proteína CP4 EPSPS, a CTNBio desregulamentou a soja 40-3-2 no Brasil em 1998, de acordo com o Comunicado nº 54, de 29 de setembro de 1998, e uma descrição da segurança da soja 40-3-2 está incluída no pedido de desregulamentação.

Desta forma, podemos concluir que as análises composicionais demonstram claramente que as sementes da soja 305423 são comparáveis às sementes da soja controle não GM com background genético comparável e à soja comercial, exceto pela composição de ácidos graxos das sementes da soja 305423, intencionalmente pretendido pela modificação genética. E, produtos alimentícios das sojas 305423x40-3-2 e 305423 são nutricionalmente equivalentes e seguros como os produtos alimentícios derivados da soja comercial. Além disso, as proteínas GM-HRA e CP4 EPSPS expressas nas sojas 305423x40-3-2 e 305423 não constituem nenhum risco alergênico significativo para a saúde humana e animal.

Em suma, não são esperados efeitos adversos nas cadeias alimentares humana e animal pela ingestão das sojas 305423x40 3 2 e/ou 305423 e seus derivados conforme demonstrado por:

- a) O fragmento de gene gm-fad2-1 inserido faz parte da região de codificação do gene 1 da dessaturase ômega-6 da soja (FAD2-1) e não codifica uma proteína funcional.
- b) O gene gm-hra codifica a proteína GM-HRA, uma versão otimizada da acetolactato sintase da soja (ALS). A expressão da proteína GM-HRA, usada como um marcador seletivo para transformação confere tolerância a herbicidas inibidores da ALS;
- c) A proteína GM-HRA é derivada da acetolactato sintase endógena da soja (ALS). A ALS é uma enzima principal que cataliza a primeira etapa comum na biossíntese dos aminoácidos essenciais de cadeia ramificada, isoleucina, leucina e valina e é amplamente distribuída na natureza. Os genes als foram isolados a partir de bactéria, fungo, algas e plantas (Falco et al., 1985; Friden et al., 1985; Mazur et al., 1987; Reith and Munholland, 1995), confirmando que a enzima ALS está presente naturalmente na alimentação humana e na ração animal derivadas de plantas e fontes microbianas;
- d) A falta de toxicidade da proteína GM-HRA para humanos e animais, conforme mostrado pelos resultados obtidos de um estudo de toxicidade em camundongos com a proteína GM-HRA;
- e) A composição de nutrientes da semente derivada das sojas 305423x40-3-2 e 305423 foram comparáveis às sementes derivadas da soja controle não modificada e da soja comercial não GM de utilizada como referência, exceto para as alterações pretendidas nos ácidos graxos.
- f) Além disso, os resultados obtidos a partir do 42º dia do estudo de alimentação de aves forneceram confirmação adicional da segurança das sojas 305423x40-3-2 e 305423 e a equivalência nutricional entre a soja 305423x40-3-2, 305423 e a soja comercial.
- g) Falta de homologia biologicamente significativa da sequência de aminoácidos entre a proteína GM-HRA e as toxinas conhecidas ou proteínas alergênicas;
- h) A susceptibilidade da proteína GM-HRA a condições digestivas simuladas in vitro;
- i) A suscetibilidade da proteína GM-HRA em condições de aquecimento;
- j) A extensa caracterização da proteína CP4 EPSPS e sua compatibilidade às enzimas EPSPS comumente encontradas em uma variedade de fontes alimentares, que têm longa histórico de uso seguro para consumo humano e animal (OECD, 1999) e com base em estudos prévios realizados com a soja 40-3-2 (aprovada pela CTNBio para uso comercial por meio do Comunicado nº 54, de 29 de setembro de 1998);
- k) O gene cp4 epsps foi obtido originalmente a partir da Agrobacterium sp. cepa CP4, que não tem potencial tóxico ou patogênico conhecido para humanos ou animais (OECD, 1999);
- l) Falta da toxicidade aguda da proteína CP4 EPSPS como determinado por um estudo de sonda esofágica em camundongos (OECD, 1999);
- m) Digestão rápida em fluidos gástricos e intestinais simulados da CP4 EPSPS (OECD, 1999); e,
- n) Suscetibilidade da proteína CP4 EPSPS ao aquecimento (OECD, 1999).

IV - Aspectos Ambientais

A empresa não apresentou a avaliação de risco ao meio ambiente, justificando a ausência dessa avaliação ao fato de que esse OGM não será cultivado no Brasil e que o pedido de liberação comercial foi submetido apenas com o interesse de importar e utilizar a soja e subprodutos dos eventos geneticamente modificado DP-305423-1 e da combinação de eventos DP-305413-1 X MON-04032-6 em produtos utilizados na alimentação humana e uso em rações animais no Brasil.

V - Restrições ao uso do OGM e seus derivados

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”.

VI - Considerações sobre particularidades das diferentes regiões do País (subsídios aos órgãos de fiscalização)

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”.

VII - Conclusão

Após análise dos documentos apresentados, a CTNBio é favorável à aprovação da soja geneticamente modificada que contenha os eventos DP-305423-1 e a combinação de eventos DP-305413-1 X MON-04032-6, as quais apresentam tolerância aos herbicidas sulfoniúreias, glifosate e qualidade de ácidos graxos alterados (alta concentração de ácido oleico) exclusivamente para importação e uso para obtenção de subprodutos a serem utilizados na alimentação humana e uso em rações animais.

Os eventos DP-305423-1 ou na forma combinada DP-305413-1 X MON-04032-6 não foram analisados para o risco ao meio ambiente, conforme disposto na Resolução Normativa nº 05, de 12 de março de 2008 e consequentemente os referidos eventos não poderão ser cultivados em nenhum ambiente do território brasileiro. Portanto, medidas de biossegurança deverão ser adotadas no transporte, beneficiamento, armazenamento, manipulação e processamento desse OGM, para evitar sua dispersão no meio ambiente.

VIII- Referências Bibliográficas

Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society B* 57: 289-300.

Brink K, Chui C-F, Cressman RF, Garcia P, Henderson N, Hong B, Maxwell CA, Meyer K, Mickelson J, Stecca KL, Tyree CW, Weber N, Zeng W, Zhong CX (2014) Molecular Characterization, Compositional Analysis, and Germination Evaluation of a High-Oleic Soybean Generated by the Suppression of FAD2-1 Expression. *Crop Science* 54: 2160-2174.

Cigan AM, Unger-Wallace E, Haug-Collet K (2005) Transcriptional gene silencing as a tool for uncovering gene function in maize. *The Plant Journal* 43: 929-940.

Codex Alimentarius Commission (2003) Alinorm 03/34: Appendix III: Draft guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants, and Appendix IV: Proposed Draft Annex of the Assessment of Possible Allergenicity. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, Rome, pp 47-60.

Codex Alimentarius Commission (2005) Codex Standard for Named Vegetable Oils. Codex Alimentarius, STAN-210-1999.

Cox MM (1988) FLP Site-Specific Recombination System of *Saccharomyces cerevisiae*. In R Kuchlerlpati, GR Smith, eds, Genetic Recombination. American Society for Microbiology, pp 429-443.

Eike MC, Mercy IS, Aalen RB (2005) Transgene silencing may be mediated by aberrant sense promoter sequence transcripts generated from cryptic promoters. *Cellular and Molecular Life Sciences* 62: 3080-3091

Falco SC, Dumas KS, Livak KJ (1985) Nucleotide sequence of the yeast ILV2 gene which encodes acetolactate synthase. *Nucleic Acids Research* 13: 4011-4027.

Falco SC, Li Z, inventors. 4 de dezembro de 2003. S-adenosyl-L-methionine Synthetase Promoter and Its Use in Expression of Transgenic Genes in Plants. US Patent Application No. 10/431,252.

FAO/WHO (2001) Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology, 22 - 25 January 2001. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

- Fernández San Juan PM (1995) Efectos producidos por la hidrogenacion sobre los aceites y grasas comestibles. Acidos grasos transinsaturados. Contenido en los alimentos. *Alimentaria* 33: 93-98.
- Friden P, Donegan J, Mullen J, Tsui P, Freundlich M, Eoyang L, Weber R, Silverman PM (1985) The *ilvB* locus of *Escherichia coli* K-12 is an operon encoding both subunits of acetohydroxyacid synthase I. *Nucleic Acids Research* 13: 3979-3992.
- Fristrom JW, Spieth PT (1980) *Principles of Genetics*, Ed 1. Chiron Press, New York, 687 pp.
- Han Y, Grierson D (2002) Relationship between small antisense RNAs and aberrant RNAs associated with sense transgene mediated gene silencing in tomato. *The Plant Journal* 29: 509-519.
- Heppard EP, Kinney AJ, Stecca KL, Miao GH (1996) Developmental and Growth Temperature Regulation of Two Different Microsomal ω -6 Desaturase Genes in Soybeans. *Plant Physiology* 110: 311-319.
- Han Y, Grierson D (2002) Relationship between small antisense RNAs and aberrant RNAs associated with sense transgene mediated gene silencing in tomato. *The Plant Journal* 29: 509-519.
- ILSI (2006) ILSI Crop Composition Database, Versão 3,0. International Life Sciences Institute, <http://www.cropcomposition.org/>.
- Jofuku KD, Goldberg RB (1989) Kunitz Trypsin Inhibitor Genes Are Differentially Expressed during the Soybean Life Cycle and in Transformed Tobacco Plants. *The Plant Cell Online* 1: 1079-1093.
- Jofuku KD, Schipper RD, Goldberg RB (1989) A Frameshift Mutation Prevents Kunitz Trypsin Inhibitor mRNA Accumulation in Soybean Embryos. *The Plant Cell Online* 1: 427-435.
- Kim SH, Jung WS, Ahn JK, Chung IM (2005) Analysis of isoflavone concentration and composition in soybean [*Glycine max* (L.)] seeds between the cropping year and storage for 3 years. *European Food Research and Technology* 220: 207-214.
- Klein TM, Wolf ED, Wu R, Sanford JC (1987) High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature* 327: 70-73.
- Mathesius CA, Barnett Jr JF, Cressman RF, Ding J, Carpenter C, Ladics GS, Schmidt J, Layton RJ, Zhang JXQ, Appenzeller LM, Carlson G, Ballou S, Delaney B (2009) Safety assessment of a modified acetolactate synthase protein (GM-HRA) used as a selectable marker in genetically modified soybeans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 55: 309-320.
- Mazur BJ, Chui C-F, Smith JK (1987) Isolation and Characterization of Plant Genes Coding for Acetolactate Synthase, the Target Enzyme for Two Classes of Herbicides. *Plant Physiology* 85: 1110-1117.
- McConn M, Browse J (1998) Polyunsaturated membranes are required for photosynthetic competence in a mutant of *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 15: 521-530.
- Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL, Fuchs RL (1996) Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1996: S165-S186.
- Morino K, Olsen O-A, Shimamoto K (2004) Silencing of the Aleurone-specific *Ltp2-gus* Gene in Transgenic Rice is Reversed by Transgene Rearrangements and Loss of Aberrant Transcripts. *Plant and Cell Physiology* 45: 1500-1508.
- OECD (1999) Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to glyphosate herbicide. Organisation for Economic Co-operation and Development, ENV/JM/MONO(99)9.
- OECD (2000) Consensus Document on the Biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean). Organisation for Economic Co-operation and Development, ENV/JM/MONO(2000)9.

OECD (2001) Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Soybean: Key Food and Feed Nutrients and Anti-nutrients. Organisation for Economic Co-operation and Development, ENV/JM/MONO(2001)15.

Reith M, Munholland J (1995) Complete nucleotide sequence of the Porphyra purpurea chloroplast genome. Plant Molecular Biology Reporter 13: 333-335.

Taylor NB, Fuchs RL, MacDonald J, Shariff AR, Padgett SR (1999) Compositional Analysis of Glyphosate-Tolerant Soybeans Treated with Glyphosate. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47: 4469-4473.

USDA (2006) Composition of Foods Raw, Processed, Prepared: USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 19. United States Department of Agriculture, Nutrient Data Laboratory, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl> .

Westfall PH, Tobias RD, Rom D, Wolfinger RD, Hochberg Y (1999) Concepts and Basic Methods for Multiple Comparisons and Tests. Em Multiple Comparisons and Multiple Tests: Using SAS. SAS Institute Inc., Cary, pp 13-40.

Windels P, De Buck S, Van Bockstaele E, De Loose M, Depicker A (2003) T-DNA Integration in Arabidopsis Chromosomes. Presence and Origin of Filler DNA Sequences. Plant Physiology 133: 2061-2068.

Yang G, Lee Y-H, Jiang Y, Kumatla SP, Hall TC (2005) Organization, not duplication, triggers silencing in a complex transgene locus in rice. Plant Molecular Biology 58: 351-366

Brasília, 08 de maio de 2018.

Dra. Maria Sueli Soares Felipe
Presidente da CTNBio

Deliberação

A CTNBio decidiu por dezenove votos favoráveis pela aprovação do pedido de liberação comercial.



Documento assinado eletronicamente por **Maria Sueli Soares Felipe, Pesquisador**, em 09/05/2018, às 09:54, conforme art. 3º, III, "b", das Portarias MC nº 89/2014 e MCTIC nº 34/2016.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <http://sei.mctic.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador **2939333** e o código CRC **8660141F**.