



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

PARECER TÉCNICO

Processo: 01200.000029/2015-92

Data de Protocolo: 06/01/2015

Requerente: Dow Agrosiences Sementes & Biotecnologia Brasil Ltda.

CQB: 107/99

CNPJ: 08.636.452/0001-76

Endereço: Avenida das Nações Unidas, 14171, 2º Andar, Ed. Diamond Tower, Santo Amaro, São Paulo – SP.

Presidente da CIBio: Mario Von Zuben

Descrição do OGM: Soja geneticamente modificada resistente a insetos e tolerante aos herbicidas 2,4-D, glifosato e glufosinato de amônio (soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2).

Classificação: Classe de Risco I

Resolução Normativa: RN 05/2006

1. Identificação do OGM

Designação do OGM: **Soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2.**

Espécie: *Glycine max* L. Merr.,

Característica Inserida: resistência a insetos e tolerância a herbicidas.

Método de introdução da característica: Soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 foi desenvolvida através de melhoramento genético clássico.

Uso proposto: uso comercial e quaisquer outras atividades relacionadas à soja geneticamente modificada resistente a insetos e tolerante aos herbicidas 2,4-D, glifosato e glufosinato de amônio (DAS-44406-6 x DAS-81419-2) e suas progênes.

2. Proteínas Expressas:

- ✓ Cry1F – Confere resistência a insetos
- ✓ Cry1Ac – Confere resistência a insetos
- ✓ 2mEPSPS – Confere tolerância ao herbicida glifosato
- ✓ AAD12 - Confere tolerância ao herbicida 2,4-D
- ✓ PAT – Confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

3. **Área de Restrição Ambiental:** Conforme estabelecido no art. 1º da Lei 11.460, de 21 de março de 2007, “ficam vedados a pesquisa e o cultivo de organismos geneticamente modificados nas terras indígenas e áreas de unidades de conservação”.

4. **Fundamentação Técnica:**

A empresa DOW AGROSCIENCES SEMENTES & BIOTECNOLOGIA BRASIL LTDA solicita liberação comercial da **soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2**, um evento combinado obtido por meio de cruzamentos clássicos, ou seja, a obtenção da nova variedade contendo múltiplos genes de espécies não compatíveis ocorreu por hibridização cruzada e seleção envolvendo doadores transgênicos. O evento em questão é composto pelo **evento DAS-44406-6**, portador dos genes: (i) *aad-12 v1* que codifica a proteína ariloxialcanoato dioxigenase (AAD-12), a qual confere à soja tolerância ao herbicida 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxiacético); (ii) *2mepsps* que codifica a proteína 2mEPSPS, a qual confere tolerância ao herbicida glifosato; e (iii) *pat* que codifica a proteína PAT, a qual confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio. O outro **evento simples, DAS-81419-2**, é portador dos genes: (i) *cry1Ac* que codifica a proteína CRY1Ac, que confere resistência a lepidópteros praga; (ii) *cry1F v3* que codifica a proteína CRY1F, que também confere resistência a lepidópteros praga; e (iii) *pat v6* que codifica a proteína PAT, que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio (usado apenas como marcador de seleção).

Gene introduzido	Doador	Produto gênico	Função
<u>aad-12</u>	<i>Delftia acidovorans</i>	Ariloxialcanoato di-oxigenase 12 (AAD-12)	Catalisa a degradação da cadeia lateral do herbicida 2,4-D
<u>2mepsps</u>	<i>Zea mays</i>	5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintase (duplo mutante)	Diminui a afinidade de ligação para o glifosato, aumentando assim a tolerância ao herbicida de glifosato
<u>pat</u>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	phosphinothricina N-acetyltransferase (PAT)	Elimina a atividade herbicida do glufosinato (fosfinotricina) por acetilação
<u>cry1Ac</u>	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i> strain HD73	Cry1Ac delta-endotoxina	Confere resistência aos insetos lepidópteros, prejudicando seletivamente o intestino médio



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

<u>cry1F</u>	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. aizawai	Cry1F delta-endotoxina	“
---------------------	---	------------------------	---

O evento DAS-81419-2 foi liberado em 2013 no Japão (alimentação e cultivo). Em 2014 foi liberada comercialmente na Austrália (alimentação), Canadá (alimentação/ração/cultivo), Nova Zelândia (alimentação) e nos Estados Unidos (alimentação/ração/cultivo); Em 2015 foi liberada no México (alimentação) e Taiwan (alimentação). Em 2016, esta soja foi liberada comercialmente na Argentina (alimentação/ração/cultivo), Coreia do Sul (alimentação e ração animal) e no Brasil (CTNBio processo 01200.005009/2013-46). – Fonte: www.isaaa.org.

A soja DAS-44406-6 foi liberada em 2013 na Austrália (alimentação), Canadá (alimentação/ração/cultivo), Nova Zelândia (alimentação), África do Sul (ração/cultivo); Em 2014 foi liberada no Japão (alimentação), México (alimentação), Coreia do Sul (ração), Taiwan (alimentação) e nos Estados Unidos (alimentação/ração/cultivo). Em 2015, esta soja foi liberada comercialmente na Argentina (alimentação/ração/cultivo) e no Brasil (CTNBio processo 01200.003948/2012- 75). E em 2016 foi liberada na Colômbia. – Fonte: www.isaaa.org.

A soja **DAS-44406-6 x DAS-81419-2** foi liberada comercialmente em 2016 na Argentina (alimentação/ração/cultivo) e em Taiwan (alimentação). Em 9 de agosto de 2016 o pedido da empresa Dow Agroscience LCC de autorização para uso na alimentação e em ração, para importação e processamento da soja **GM DAS-81419-2 x DAS-44406-6** foi aceito pela EFSA (European Food Safety Authority). – Fonte: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=416>

A soja DAS-44406-6 foi desenvolvida através de transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* a partir da soja convencional variedade Maverick. A soja DAS-44406-6 apresenta, integrada ao seu genoma, o inserto de T-DNA originado do plasmídeo pDAB8264, o qual contém os genes *2mepsps*, *aad-12* e *pat*. Tais genes codificam, respectivamente, as proteínas AAD-12, 2mEPSPS e PAT que conferem à soja DAS-44406-6 a tolerância aos herbicidas 2,4-D, glifosato e glufosinato de amônio, respectivamente.

O gene *aad-12*, é uma versão sintética do gene da ariloxialcanoato dioxigenase, originário da bactéria *Delftia acidovorans*. Este gene passou por um processo de otimização para melhorar a expressão em plantas. *D. acidovorans*, designada *Pseudomonas acidovorans* antes de 1987 e classificada como *Comamonas acidovorans* de 1987 a 1999, é uma bactéria estritamente aeróbica, gram-negativa, que ocorre no solo, em água corrente, em tratamento de esgoto e presente em espécimes clínicas. *D. acidovorans* pode ser usada para a transformação de ácido ferúlico em vanilina e outros metabólitos de sabor. Essa forma tradicional de utilização confirma o histórico de uso de *D. acidovorans* na indústria de processamento de alimentos. Esse processo foi patenteado nos Estados Unidos em Julho de 1992 pela Kraft General Foods.



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

D. acidovorans, como muitas outras bactérias de solo, é capaz de usar herbicida como fontes de carbono para se desenvolver, garantindo a esse microrganismo uma vantagem competitiva nessas condições.

A enzima AAD-12 é uma dioxigenase dependente de α -cetoglutarato que degrada o herbicida 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxiacético), através da catálise de conversão de 2,4-D em 2,4-Diclorofenol (DCP), um composto sem atividade herbicida. A enzima AAD-12 também degrada herbicidas fenoxiacetato aquirais tais como MCPA (ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético) e herbicidas piridiloxiacetato tais como triclopir e fluroxipir em seus fenóis inativos correspondentes.

Para se obter uma maior expressão de genes heterólogos em plantas, os pesquisadores da Dow AgroSciences modificaram a sequência codificadora dos genes doadores originais de forma que eles pudessem se expressar mais eficientemente em células vegetais. A versão otimizada do gene *aad-12* foi produzida modificando-se a proporção do nucleotídeos G+C a um nível semelhante ao que ocorre em DNA de plantas visando melhorar a expressão desse gene em células vegetais. Essa modificação busca a utilização de códons mais frequentes em plantas, sem alterar a sequência proteica, favorecendo a utilização dos RNAs transportadores que ocorrem em plantas e, por consequência, otimizando a expressão gênica. As sequências de DNA do gene *aad-12* nativo e do gene *aad-12* otimizado apresentam 79,7% de identidade.

O gene *2mepsps* codifica uma enzima do tipo 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS). A sequência codificadora do gene *2mepsps* foi originalmente isolada de milho (*Zea mays*) e fusionada a sequência codificadora de um peptídeo de trânsito para o cloroplasto, na porção N-terminal. O peptídeo de trânsito foi otimizado utilizando os peptídeos da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase oxigenase (RuBisCO) de milho e girassol.

O gene *2mepsps* (também conhecido como *dmmg*, mEPSPS) foi introduzido em milho como fonte de tolerância ao glifosato no evento GA21 (identificado na OECD como MON-00021-9) e tem sido aprovado por agências de regulamentação de vários países, sendo considerado seguro para utilização em alimentos e rações e para o meio ambiente (USDA, 1997). Esse gene também foi empregado no algodão GlyTol™ (identificado na OECD como BCS-GH002-5), cujo evento foi aprovado pelo USDA APHIS em 2009 (USDA, 2009). Ele está presente também no evento de soja FG-72 (identificado na OECD como MST-FG072-3) que está atualmente em revisão por agência regulatória nos EUA (USDA APHIS como processo 09-328-01p). O gene *2mepsps* codifica a proteína 2mEPSPS que é uma versão da proteína EPSPS insensível ao herbicida glifosato, proporcionando assim tolerância ao glifosato em plantas.

A soja DAS-81419-2 foi desenvolvida através de transformação genética mediada por *A. tumefaciens* a partir da soja convencional variedade Maverick. A soja DAS-81419-2 apresenta, integrada ao seu genoma, o inserto de T-DNA originado do plasmídeo pDAB9582, o qual contém os genes *cryIF*, *cryIAc* e *pat*. Tais genes codificam, respectivamente, as proteínas CRY1F, CRY1Ac e PAT. As proteínas



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

CRY1F e CRY1Ac proporcionam à soja DAS-81419-2 resistência a insetos enquanto a proteína PAT confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio. A soja DAS-81419-2, à semelhança da soja convencional, não exibe tendência a proliferar-se como erva daninha e não é invasiva em ecossistemas naturais. Nenhuma vantagem competitiva será proporcionada pelos genes *cry1Ac*, *cry1F* e *pat* introduzidos na soja DAS-81419-2, quando comparado à soja convencional. A soja DAS-81419-2 sofreu transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* cepa EHA101, utilizando o plasmídeo pDAB9582.

As proteínas CRY1F e CRY1Ac são originárias de *B. Thuringiensis*, uma bactéria gram positiva de solo, bastante comum, capaz de produzir esporos. Quando se encontra em condições de limitação de recursos esta bactéria esporula, produzindo cristais proteicos. As proteínas presentes nestes cristais são chamadas de endotoxinas CRY e vêm sendo utilizadas na agricultura por décadas como bioinseticidas contra grupos específicos de insetos.

As observações ao longo das primeiras 5 gerações da soja DAS-44406-6 indicaram que a inserção dos genes *aad-12*, *2mepsps* e *pat* não produziram alterações na morfologia das plantas hospedeiras, e em características agrônomicas, reprodutivas e na composição química e nutricional dos grãos e da forragem, indicando ausência de interações dos genes exógenos introduzidos e os genes endógenos do genoma receptor. Ao longo do trabalho de coleta de dados para demonstrar que a soja DAS-44406-6 é segura para a saúde humana, animal e para o meio ambiente, várias características das plantas geneticamente modificadas foram analisadas comparativamente à soja isolinha convencional. Nestas pesquisas um número grande de genes responsáveis por diversas características acaba sendo indiretamente avaliado, dando oportunidade para se detectar interações entre os genes *aad-12*, *2mepsps* e *pat* e os genes da soja hospedeira. Entretanto, nenhuma alteração nas características estudadas foi observado nas várias gerações avaliadas.

Estudos realizados nos EUA e no Brasil envolveram a análise de caracteres fenotípicos, agrônomicos, de composição de nutrientes, do efeito da soja DAS-44406-6 em características químicas e físicas do solo, da degradabilidade da matéria orgânica das plantas no solo e do efeito das plantas geneticamente modificadas no estado nutricional das plantas. Em todos esses estudos não foi detectado nenhuma diferença significativa entre a soja DAS-44406-6 e seu controle convencional de mesmo *background* genético, que poderia indicar a ocorrência de interações dos genes inseridos na soja DAS-44406-6 e demais genes do genoma com surgimento de efeitos pleiotrópicos e epistáticos detectáveis.

A soja DAS-81419-2 expressa as proteínas cristalizadas sintéticas com atividade inseticida CRY1Ac e CRY1F proveniente da bactéria que ocorre naturalmente no solo, *Bacillus thuringiensis*. As proteínas CRY1Ac e CRY1F protege a planta da soja Bt contra vários lepidópteros praga. Além disso, a soja DAS-81419-2 expressa o gene *pat* oriundo da bactéria de solo *Streptomyces viridochromogenes* que codifica a proteína fosfinotricina acetiltransferase (PAT). A proteína PAT confere tolerância ao herbicida glufosinato e foi utilizada única e exclusivamente como um marcador de seleção durante o desenvolvimento



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

da soja DAS-81419-2. Os transgenes contendo as proteínas de expressão CRY1Ac, CRY1F e PAT foram introduzidos na soja DAS-81419-2 através de transformação mediada por *Agrobacterium*.

As proteínas CRY1F, CRY1Ac e PAT não compartilham similaridades estruturais ou imunológicas significativas com sequências de aminoácidos de alérgenos ou de gliadinas conhecidas, portanto é muito baixa a probabilidade de que as proteínas CRY1F, CRY1Ac e PAT tenham reação imunológica cruzada com epítomos alergênicos). As sequências de aminoácidos dessa proteína não estão associadas à toxicidade ou alergenicidade, segundo os resultados da pesquisa no BLASTp. Conclui-se que as proteínas CRY1F, CRY1Ac e PAT não contêm sequência de aminoácidos com similaridades à sequências de proteínas tóxicas ou alergênicas a humanos e/ou animais.

Os resultados de expressão das proteínas AAD-12, 2mEPSs, PAT, CRY1Ac, CRY1F e PAT na soja **DAS-44406-6 x DAS-81419-2**, comparados com a expressão nos eventos simples, DAS-44406-6 e DAS-81419-2, mostram que os valores das proteínas nos vários tecidos da planta são correspondentes nos dois tipos de soja. Esses resultados corroboram com dados semelhantes obtidos para características fenotípicas, agrônômicas, reprodutivas (item 2, Anexo IV do dossiê) e composicional (item 3, Anexo III do dossiê), indicando ausência de interação gênica na soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 obtida por meio de cruzamento clássico dos eventos individuais em programa de melhoramento genético.

Foram realizados estudos de composição química e nutricional de forragem e grãos de soja **DAS-44406-6 x DAS-81419-2** comparativamente semelhante ao cultivar convencional. Foram quantificados os teores de proteínas, fibras, minerais, aminoácidos, vitaminas, ácidos graxos, antinutrientes, isoflavonóides, etc. Os resultados comprovaram que a soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 não difere da soja convencional em sua composição química e nutricional, exceto pela presença e expressão dos genes *aad-12*, *pat*, *2mepsps* que conferem tolerância aos herbicidas 2,4-D, glufosinato de amônio e glifosato, respectivamente, e dos genes *cry1Ac* e *cry1F*, que conferem resistência a lepidópteros praga.

As informações das características da planta geneticamente modificada coletadas durante os testes de campo, bem como das análises laboratoriais apresentadas no dossiê apresentado pela empresa confirmam os dados obtidos em várias regiões dos Estados Unidos e várias regiões do Brasil, como Goiás, Minas Gerais e São Paulo, comprovando que o cultivo e o consumo da soja **DAS-44406-6 x DAS-81419-2** é tão seguro ao meio ambiente e à saúde humana e animal quanto à soja convencional.

As plantas de soja não apresentam polinização cruzada significativa, não possuem ancestrais selvagens no Brasil e não se comportam como plantas daninhas.

Não é esperada transferência horizontal dos genes *aad-12*, *2mepsps*, *cry1Ac*, *cry1F* e *pat* para a microbiota de solo, uma vez que não existe qualquer mecanismo conhecido ou demonstração definitiva de que o DNA possa se transferir de plantas para microrganismos. Mesmo que uma transferência fosse feita, os genes *aad-12*, *2mepsps*, *cry1Ac*, *cry1F* e *pat* presentes na soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 não trariam



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

nenhum risco à saúde dos organismos não alvo ou ao meio ambiente, com base nos dados de segurança apresentados nesta petição. Dessa forma, nenhum risco ao meio ambiente é esperado pelo cultivo da soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2.

Não existe qualquer mecanismo conhecido ou demonstração definitiva que o DNA possa se transferir de plantas para microrganismos. Mesmo que uma transferência pudesse ocorrer, os genes *aad-12*, *2mepsps*, *pat*, *cry1Ac* e *cry1F* presentes no evento DAS-44406-6 x DAS-81419-2 não trariam nenhum risco à saúde das plantas ou ao meio ambiente, com base nos dados de segurança apresentados no Relatório de Biossegurança apresentado pela empresa. Ainda assim, por solicitação desta sub-comissão da CTNBio, a empresa enviou estudo de avaliação do efeito do cultivo da soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2, da soja DAS-44406-6 e da soja DAS-81419-2 na comunidade de microrganismos do solo em diferentes localidades representativas do cultivo de soja no Brasil. Para melhor estimativa do efeito os experimentos foram realizados em regiões de clima e de solo distintas, em Unidades Operativas localizadas em Cascavel/PR, Restinga Seca/RS e Lucas do Rio Verde/MT. A metodologia usada para detectar possíveis efeitos de plantas geneticamente modificadas, ou seja, para detectar primariamente diferenças entre a soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 e a soja convencional na comunidade microbiana do solo, foram de análises de contagem de bactérias e fungos em placas, avaliação de biomassa de carbono, avaliação do número provável de amonificantes e celulolíticos e análises da enzima β -glicosidase e fosfatase ácida. O tratamento estatístico através da análise de variância (ANOVA) mostrou que o efeito da soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 é similar ao efeito da soja convencional/comercial na comunidade de microrganismos do solo.

Não se espera hibridação introgressiva da soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 com espécies no Brasil, uma vez que não existe no país qualquer espécie nativa, silvestre ou feral que possa intercruzar com *Glycine max*. As únicas espécies silvestres que poderiam cruzar com a soja cultivada são do gênero *Glycine*, porém não ocorrem naturalmente no Brasil. Não há também nenhum centro de diversidade genética ou centro de origem da soja no Brasil.

No Brasil foram realizados estudos para verificar o impacto da soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 nos principais grupos de artrópodes não alvo que podem ocorrer na cultura da soja. Para tanto, usou-se amostragem com armadilhas, com inspeção visual e com avaliação da mesofauna do solo. Os resultados mostraram que é possível afirmar que o evento DAS-44406-6 x DAS-81419-2 não causa impacto negativo nas comunidades de artrópodes não alvo associados à cultura da soja.

Extensivos estudos comparativos da soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 com sua correspondente convencional, para avaliação de caracteres agronômicos, botânicos, reprodutivos, estudo composicional e impacto em organismos não alvo, com germoplasma avaliado em condições de clima temperado, tropical e subtropical, da América do Norte e Brasil, demonstram a similaridade dos dois produtos. Desta forma, através dos resultados desses estudos pode-se concluir que o evento DAS-44406-6 x DAS-81419-2 não



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

produz alterações significativas nas características botânicas, agronômicas e composição nutricional das plantas que possam diferenciá-lo de seu correspondente convencional.

Pode-se, portanto, inferir que os possíveis efeitos da soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 em organismos indicadores relevantes, simbioses, predadores, polinizadores, parasitas ou competidores nos ecossistemas onde se pretende cultivar o OGM não serão distintos dos efeitos que podem ocorrer com o cultivo de soja convencional.

Levando em consideração todos os resultados apresentados pela DOW AgroSciences dos eventos isolados e estaqueados num mesmo dossiê, que a soja DAS-44406-6 já foi aprovada por esta subcomissão em 2015 e a DAS-81419-2 foi aprovada por esta subcomissão em 2016, e mais ainda, considerando que a CTNBio avaliou os eventos isoladamente e emitiu parecer favorável à sua Liberação Comercial;

Considerando ainda que:

1. O evento DAS-44406-6 x DAS-81419-2 foi bem caracterizado molecularmente, tendo sido atestada a manutenção da integridade das construções gênicas herdadas dos respectivos parentais durante o processo de melhoramento genético clássico;
2. Não há indícios de interação entre as vias metabólicas em que atuam as proteínas *aad-12*, *2mepsps*, *pat*, *cry1Ac* e *cry1F*;
3. Não foram identificados efeitos pleiotrópicos ou epistáticos nos eventos parentais e no evento conjunto;
4. A expressão das proteínas *aad-12*, *2mepsps*, *pat*, *cry1Ac* e *cry1F* na soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 não é significativamente diferente da expressão observada nos eventos parentais separadamente;
5. Não há indícios de que as proteínas expressas possam causar alergia ou intoxicação em humanos e animais;
6. As avaliações agronômicas e de eficácia da soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 indicaram que a combinação destes eventos por métodos de melhoramento genético clássico (cruzamentos sexuais) não levou à expressão de qualquer outra característica diferente da esperado de resistência a insetos lepidópteros e tolerância aos herbicidas;
7. Não foram evidenciadas alterações morfológicas e fisiológicas na soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 que possam conferir vantagens adaptativas;
8. As demais análises de risco realizadas por países que já avaliaram a soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 e os critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco de matérias-primas geneticamente modificadas no que tange a eventos combinados, concluo:

que o pedido atende às normas e às legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do saúde humana, animal, das plantas e do meio ambiente e concluo que a



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

soja DAS-44406-6 x DAS-81419-2 é substancialmente equivalente a soja convencional e não impõe riscos as plantas e ao meio ambiente.

Parecer:

Ante aos dados apresentados pela proponente e a literatura consultada concluímos que esse evento de soja geneticamente modificado não oferece riscos às plantas e ao meio ambiente. Considerando ainda que o presente pedido de liberação comercial atende às normas e às legislações vigentes que visam garantir a biossegurança ambiental, vegetal, animal e do homem, somos, s.m.j., de parecer favorável a solicitação da empresa Dow Agrosciences Sementes e Biotecnologia Brasil Ltda de Liberação Comercial da soja geneticamente modificada resistente a insetos e tolerante aos herbicidas 2,4-D, glifosato e glufosinato de amônio, evento DAS-44406-6 x DAS-81419-2.

Em 02/06/2017

Dra. PATRICIA MACHADO BUENO FERNANDES
Membro da CTNBio

Referências Bibliográficas:

Borém, A. (1999). Escape gênico: os riscos do escape gênico da soja no Brasil. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, v.10, p.101-107, 1999.

Brooks, K.J., Yano, B.L., (2001). CryIac-(synpro) microbial protein: Acute oral toxicity study in CD-1 mice. Study ID 011126. Dow AgroSciences LLC.

Calgene, Inc. (1993). Food additive petition for the APH(3') II as a processing aid FDA Docket Number: 93F-0232.



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

- Connor, A. J.; Glare, T. R.; Nap, J. P. (2003) The release of genetically modified crops into the environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. *The Plant Journal* 33:19-46.
- Cranston, H.J., Kern, A.J., Hackett, J.L., Miller, E.K., Maxwell, B.D., Dyer, W.E., 2001. Dicamba resistance in kochia. *Weed Science* 49, 164-170.
- EPA. (1995). Plant pesticide inert ingredient fosfinotricina acetiltransferase (PAT) and the genetic material necessary for its production (plasmid vector pCIBP3064) in corn; tolerance exemption. *Fed. Reg.*; 60, 158, pp. 42450-42453.
- FDA. (1994). Food and Drug Administration, Secondary Direct Food Additives Permitted in food for Human Consumption; Food Additives Permitted in Feed and Drinking Water of Animals Aminoglycoside 3' -phosphotransferase II. *Federal Register* 59:26700-26711, 1994.
- Herman, R.A., Gao, Y., (2001). Thermolability of cry 1ac(synpro) delta-endotoxinn. GH-C 5281. Dow AgroSciences LLC.
- Herouet, C.; Esdaile, D. J.; Mallyon, B. A.; Debruyne, E.; Schulz, A.; Currier, T.; Hendrickx, K.; van der Klis, R-J.; Rouan, D. (2005). Safety evaluation of the fosfinotricina acetiltransferase proteins encoded by pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 41: 134-139.
- Korjagin, V.A., (2001). *In vitro* simulated gastric fluid digestibility study of microbially derived cry1ac (synpro). Study ID 010026. Dow AgroSciences LLC.
- Korjagin, V.A., (2002). *In vitro* simulated gastric fluid digestibility study of microbially derived cry1F (synpro). Study ID 040097. Dow AgroSciences LLC.
- Korjagin, V.A., (2004). *In vitro* simulated gastric fluid digestibility study of microbially derived PAT. Study ID 040097. Dow AgroSciences LLC.
- Labuda, I.M., Goers, S.K., Koen, K.A., (1992). Bioconversion process for the production of vanillin. U.S. Patent No. 5,128,253.



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

- Lebrun, M., Leroux, B., Sailland, A., (1996). Chimeric gene for the transformation of plants. U.S. Patent No. 5,510,471.
- Lebrun, M., Sailland, A., Freyssinet, M., Degryse, E., (2003). Mutated 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene coding for said protein and transformed plants containing said gene. U.S. Patent No. 6,566,587.
- Mao, et al, (2017). A 52-week safety study in cynomolgus macaques for genetically modified rice expressing Cry1Ab/1Ac protein. Food Chem Toxicol. 2016 Sep;95:1-11. doi: 10.1016/j.fct.2016.06.015
- Miyasaka, S. & Medina, J. C. (1981). A soja no Brasil. Campinas: Editora ITAL. 1062p.
- Müller, R.H., Jorks, S., Kleinstauber, S., Babel, W., (1999). Comamonas acidovorans strain MC1: A new isolate capable of degrading the chiral herbicides dichlorprop and mecoprop and the herbicides 2,4-D and MCPA. Microbiological Research 154, 241-246.
- Prins, T. W. & Zadoks, J. C. (1994). Horizontal gene transfer in plants, a biohazard? Outcome of a literature review. Euphytica 76:133-138. 1994.
- Rao, S.R., Ravishankar, G.A., (2000). Vanilla flavour: Production by conventional and biotechnological routes. Journal of the Science of Food and Agriculture 80, 289-304.
- Redenbaugh, K.; Hiatt, W.; Martineau, B.; Linfrman. J. & Emlay, D. (1994). Aminoglycoside 3'phosphotransferase II (aph (3')II): riviw of its safety and use the production of genetically engineered plants. Food Biotechnology 8 137-165, 1994
- Romeis, J.; Meissle, M; Bigler, F. (2006). Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis*toxins and biological control. Nature Biotechnology. 24(1): 63-71.
- Schlüter, K.; Futterer, J. & Potrykus, I. (1995). "Horizontal" gene transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia chrysanthemi*) occurs - if *et all* - at an extremely low frequency. Bio/Technology 13:1094-1098. (1995).



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

- Schlutter, T.H.; Potting, R.P.J.; Denholm, I.; Poppy, G.M. (1995). Parasitoid behaviour and *Bt* plants.
- Shetty, K., Paliyath, G., Pometto, A., Levin E, R., (2006). Food biotechnology. CRC Press, Taylor & Francis Group LLC, Boca Raton, FL.
- Tamaoka, J., Ha, D.M., Komagata, K., (1987). Reclassification of *Pseudomonas acidovorans* den Dooren de Jong 1926 and *Pseudomonas testosteroni* marcus and talalay 1956 as *Comamonas acidovorans* comb. Nov. And *Comamonas testosteroni* comb. nov., with an emended description of the genus *Comamonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 37, 52-59.
- Toms, A., Wood, J.M., (1970). The degradation of trans-ferulic acid by *Pseudomonas acidovorans*. *Biochemistry* 9, 337-343.
- USDA, (1997). Availability of determination of nonregulated status for genetically engineered corn line. *Federal Register* 62 (234): 64350-64351. www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs2/97_09901p_com.pdf.
- USDA, (2009). Determination of nonregulated status for cotton genetically engineered for glyphosate herbicide tolerance. *Federal Register* 74 (98): 23987-23988. <http://edocket.access.gpo.gov/2009/E9-11972.htm>.
- Vernetti, F. J. (1983). Soja - planta, clima, pragas, moléstias e invasoras - vol I, genética e melhoramento - vol. II. Campinas: Fundação Cargill, 990p.
- Wen, A., Fegan, M., Hayward, C., Chakraborty, S., Sly, L.I., (1999). Phylogenetic relationships among members of the Comamonadaceae, and description of *Delftia acidovorans* (den Dooren de Jong 1926 and Tamaoka *et al.* 1987) gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49, 567-576.
- Westendorf, A., Benndorf, D., Müller, R.H., Babel, W., (2002). The two enantiospecific dichlorprop/alpha-ketoglutarate-dioxygenases from *Delftia acidovorans* MC1: Protein and sequence data of *rdpa* and *sdpa*. *Microbiological Research* 157, 317-322.



Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

Westendorf, A., Müller, R.H., Babel, W., (2003). Purification and characterisation of the enantiospecific dioxygenases from *Delftia acidovorans* MC1 initiating the degradation of phenoxypropionate and phenoxyacetate herbicides. *Acta Biotechnologica* 23, 3-17.

WHO - World Health Organization. (1993). "Health Aspects of Marker Genes in Genetically Modified Plants." Report of the WHO *Workshop* held in Copenhagen, Denmark on September 1993.

WHO. (1993). Health Aspects of Marker Genes in Genetically Modified Plants. World Health Organization Food Safety, Geneva, Switzerland, 32 pp. 1993.

Wright, T. R.; Lira, J. M.; Merlo, D. J., Hopkins, N. (2005). Dow AgroSciences LLC. Novel Herbicide Resistance Genes. U.S. Patent Application Publication # WO/2005/107437.

Wright, T.R., Shan, G., Walsh, T.A., Lira, J.M., Cui, C., Song, P., Zhuang, M., Arnold, N.L., Lin, G., Yau, K., Russell, S.M., Cicchillo, R.M., Peterson, M.A., Simpson, D.M., Zhou, N., Ponsamuel, J., Zhang, Z., (2010). Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 20240-20245.