

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO: 6658/20109

A Presidência da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 226ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 03 de outubro de 2019, a CTNBio apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:

Processo: 01250.014497/2019-82

Requerente: CTC - Centro de Tecnologia Canavieira

CQB: 006/96

Assunto: Liberação comercial de cana geneticamente modificada.

A CTNBio, após apreciação do pedido de parecer para liberação comercial de cana geneticamente modificada resistente a insetos para liberação no meio ambiente, comercialização, consumo e quaisquer outras atividades relacionadas a esse OGM, material de propagação vegetativa existente e progênes dele derivadas, concluiu pelo seu DEFERIMENTO nos termos desse parecer técnico.

O evento CTC93209-4 é um evento adicional de cana-de-açúcar geneticamente modificada desenvolvido pelo CTC para expressar uma proteína da classe Cry1A com o objetivo de controlar a broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*). O CTC desenvolveu o evento CTB141175/01-A (background genético da cultivar CTC20) e o evento CTC91087-6 (background genético da cultivar CTC9001) com essa mesma finalidade. O evento CTC93209-4 foi modificado geneticamente para expressar a proteína Cry1Ac, que confere resistência a *Diatraea saccharalis*, e a proteína NptII, empregada como marcador de seleção. A variedade comercial CTC20BT (evento CTB141175/01-A) expressa as proteínas Cry1Ab e NptII e foi liberada comercialmente pela CTNBio em 08 de junho de 2017 (Extrato de Parecer Técnico N° 5.483/2017). A variedade comercial CTC9001BT (evento CTC91087-6) expressa as proteínas Cry1Ac e PAT (bar) e foi liberada comercialmente pela CTNBio em 17 de dezembro de 2018 (Extrato de Parecer Técnico N° 6.235/2018). Adicionalmente, o evento CTC93209-4 expressa ainda a proteína NptII, utilizada nos passos iniciais de transformação genética como marcador de seleção. A proteína Cry1Ac (68,7kDa) possui sequência de aminoácidos 100% idêntica a sequências encontradas em outros eventos geneticamente modificados de milho e soja já aprovados globalmente e com amplo histórico de uso seguro. Similarmente, a proteína NptII (29,2

kDa) apresenta 99,7% de identidade de aminoácidos com proteínas NptII expressa por eventos comerciais de algodão e milho e 100% idêntica ao evento CTB141175/01-A de cana-de-açúcar.

O CTC comprovou a resistência a insetos presentes no evento CTC93209-4 por meio da condução ensaios de eficácia com inoculação massiva de larvas de *Diatraea saccharalis*. O evento demonstrou resistência à *D. saccharalis* quando comparado à variedade parental CTC9003 em quatro localidades representativas da área de cultivo da CTC9003, a saber, Piracicaba, Barrinha e Valparaíso (SP) e Quirinópolis (GO). Esta resistência ao ataque da broca-da-cana foi verificada tanto pela menor intensidade de infestação (I.I.%), medida pelo número de colmos que apresentaram danos pelo inseto, quanto pela diminuição do tamanho das áreas brocadas (% Dano). Tanto a razão entre I.I.% quanto a razão de %Dano do evento CTC93209-4 em relação ao controle convencional CTC9003 foi superior a 98% em todas as localidades testadas. O DNA integrado no genoma do evento CTC93209-4 foi extensivamente caracterizado utilizando várias metodologias. O número de cópias dos genes heterólogos foi previamente estimado por meio de PCR quantitativo em tempo real (qPCR). Os resultados indicaram que dois insertos íntegros de T-DNA foram integrados no genoma do evento e que não houve integração de sequências referentes ao esqueleto (*backbone*) do plasmídeo utilizado na transformação. Análises de *Southern blot* utilizando sondas homólogas às sequências do gene *cry1Ac* e do gene *nptII* corroboraram as evidências de integração de duas cópias dos genes *cry1Ac* e *nptII* e ausência de integração parcial de elementos do T-DNA em outros sítios do genoma do evento CTC93209-4. Adicionalmente, foram realizados ensaios de *Southern blot* com quatro sondas sobrepostas desenhadas para cobrir toda a extensão do *backbone* do plasmídeo utilizado na transformação. Esses ensaios não detectaram qualquer integração de *backbone* do plasmídeo no genoma do evento CTC93209-4. O grau de estabilidade genotípica do evento CTC93209-4 também foi verificado via metodologia de *Southern blot* comprovando que os dois insertos de T-DNA se mantiveram estáveis ao longo de quatro gerações de propagação vegetativa representando os diferentes ciclos da cultura (cana-planta e cana-soca). Esse resultado confirma que o T-DNA se fixou no genoma do evento CTC93209-4 uma vez que o sistema de propagação vegetativo da cana-de-açúcar utilizado nos plantios comerciais não permite a segregação genética. Finalmente, o sequenciamento completo do T-DNA e das regiões flanqueadoras foi realizado utilizando metodologia de sequenciamento por captura (Illumina MiSeq®). Os resultados desse ensaio foram posteriormente confirmados utilizando *primers* de PCR complementares às regiões flanqueadoras e sequências internas dos insertos. Esses *primers* permitiram amplificar completamente as duas inserções de T-DNA e suas regiões flanqueadoras em fragmentos de DNA que foram posteriormente sequenciados via metodologia Sanger e alinhados para criar a sequência final consenso e o mapa de ambas integrações. Uma análise de

bioinformática abrangente foi realizada com os dados de sequenciamento das inserções presentes no evento CTC93209-4 (T-DNAs e regiões flanqueadoras) descartando a possibilidade de ocorrência de efeitos não desejados tais como a expressão de proteínas com homologia a alérgenos ou toxinas.

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.

No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a CTNBio concluiu que o presente pedido atende às normas e legislação pertinentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.

Este é um extrato do Parecer Técnico da CTNBio. Sua íntegra, assim como todos os documentos referentes à solicitação, constam do processo armazenado na CTNBio. Informações complementares poderão ser solicitadas através do Serviço de Informação ao Cidadão - SIC, pelo sítio eletrônico <https://esic.cgu.gov.br/>.

Maria Sueli Soares Felipe

Presidente da CTNBio