



**COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA
PARECER TÉCNICO Nº 1640/2021/SEI-CTNBio - Membros**

PARECER TÉCNICO: 7795/2021

Processo: 01250.014650/2019-71

Data de Protocolo: 28/03/2019

Assunto: Liberação comercial da farinha de trigo geneticamente modificado, evento IND-00412-7.

Requerente: Tropical Melhoramento Genético S.A.

CQB: 284/09

CNPJ: 6.331.414/0001-80

Endereço: Rod. Celso Garcia Cid Km 87, no município de Cambé/PR.

Extrato Prévio: 6507/2019

Decisão: Deferido

Reunião: 246ª Reunião Ordinária ocorrida em 11/11/2021

Identificação do OGM:

Designação do OGM: Trigo HB4

Espécie: *Triticum aestivum*

Característica Inserida: O trigo geneticamente modificado pela introdução do gene HaHB4 apresenta o fenótipo de tolerância a diversos estresses ambientais, incluída a tolerância ao déficit hídrico e a tolerância a herbicidas baseados em glufosinato de amônio.

Método de introdução da característica: O trigo IND-00412-7 foi produzido utilizando um método de co-transformação com dois plasmídeos. Ambos os vetores estão baseados em uma série de plasmídeos que utilizam o

promotor de ubiquitina de milho para direcionar a expressão de genes em plantas.

Uso proposto: uso exclusivo em alimentos, rações ou produtos derivados ou processados.

Solicitação:

A Comissão Interna de Biossegurança da Tropical Melhoramento e Genética S.A. solicitou à CTNBio parecer para comercialização do derivado (farinha) do trigo geneticamente modificado para tolerância à seca e a herbicida, evento IND-00412-7, contendo o gene *HaHB4* proveniente de Girassol, para importação e uso exclusivo em alimentos, rações ou produtos derivados.

O evento de trigo IND-00412-7 foi desenvolvido pela empresa argentina Bioceres. No Brasil, Bioceres e Tropical Melhoramento e Genética (TMG) firmaram uma parceria para viabilizar o uso desse evento transgênico no país. Por meio dessa parceria, a TMG teve acesso aos estudos realizados para solicitar a liberação comercial do evento.

O gene *HaHB4*, proveniente do Girassol (*Helianthus annuus*) confere ao trigo significativo potencial para aumento de produtividade em situações e ambientes de baixa disponibilidade hídrica, sem prejudicar o teto produtivo em condições ambientais ótimas para a cultura. Tal contribuição tem sido demonstrada ao longo de diversos anos e locais de testes na Argentina.

Os dados aqui apresentados são oriundos de estudos realizados na Argentina. Foram testados a campo o evento de trigo IND-00412-7 (também designado como “trigo HB4”), o controle parental convencional (não geneticamente modificado) e variedades comerciais de referência. O evento IND-00412-7 foi gerado através da metodologia de bombardeamento de micropartículas e contém os seguintes genes: 1) o gene do fator de transcrição *HaHB4* do girassol; 2) o gene *bar* de *Streptomyces hygroscopicus* que confere tolerância ao glufosinato de amônio. O gene *HaHB4* (*Helianthus annuus* Homeobox 4), naturalmente presente no girassol, é expresso em níveis muito baixos, e ativado quando as plantas são submetidas a condições de estresse hídrico, salino, escuridão ou ataques de insetos. Assim, a proteína HAHB4 é um componente natural da alimentação humana e animal.

O evento IND-00412-7 possui uma cópia completa do gene *HaHB4* com elementos regulatórios funcionais e duas cópias completas do gene *bar* com seus elementos regulatórios na posição correta. A proteína HAHB4 no evento IND-00412-7 pertence à família de fatores de transcrição HD-Zip, caracterizada pela presença de dois domínios funcionais: o Homeodomínio (HD), responsável pela ligação ao DNA e um motivo de “Zíper de Leucinas”

(LZ), envolvido na interação proteína e dimerização. A proteína não possui nenhuma função inseticida ou de tolerância a herbicida e atua principalmente em resposta a estresse abióticos, principalmente em vias sinalizadas por etileno. A proteína PAT presente no evento IND-00412-7 confere às plantas o fenótipo de tolerância a herbicidas baseados em glufosinato de amônio, através da expressão da proteína fosfinotricina N-acetil-transferase.

Foram realizadas diversas análises, avaliações e estudos a campo e em laboratório com o evento transgênico IND-00412-7, na Argentina, para comprovar sua segurança alimentar e ambiental.

A análise extensiva da proteína HAHB4 confirma a sua segurança alimentar, nutricional e ambiental. Esta conclusão baseia-se em um peso de evidências de múltiplas fontes: origem do gene a partir de vegetal já utilizado na alimentação humana e histórico de uso e exposição; avaliação da digestibilidade e estabilidade térmica da proteína HAHB4 em ensaio *in vitro*; comparações de bioinformática da sequência de aminoácidos com toxinas, alérgenos e sequências alérgênicas conhecidas; estado de glicosilação; estudo de toxicidade oral da proteína HAHB4; e nível de proteína HAHB4 em forragem e grão de trigo IND-00412-7.

O ensaio *in vitro* de fluido gástrico simulado revelou uma rápida degradação da proteína HAHB4. Não foram observados fragmentos de proteína após os primeiros 30 segundos de digestão. A proteína HAHB4 não se fragmentou durante a exposição a ciclos de calor prolongados, o que permite que a proteína seja observada através de análises SDS-PAGE. Pesquisas de bioinformática não revelaram homologia de HAHB4 com proteínas alérgênicas ou tóxicas conhecidas. Os resultados indicam a improbabilidade de que a proteína HAHB4 cause uma reação alérgica em seres humanos ou que seja tóxica para seres humanos ou animais e, portanto, é segura para consumo humano e animal.

Um estudo de toxicidade oral da proteína HAHB4 foi conduzido em ratos na dose de 3822 mg da proteína HAHB4 por kg de peso corporal. Todos os ratos sobreviveram e não apresentaram quaisquer efeitos adversos causados pela proteína testada durante o estudo. Todos esses resultados sugerem que a dose máxima tolerada de proteína HAHB4, sem a observação de efeitos adversos, é maior do que 3822 mg/kg PC e, portanto, o Nível de Efeito Adverso Não Observado (NOAEL) é superior a 3822mg/kg PC. Por essa razão, conclui-se que a toxicidade oral aguda deve ser muito baixa, uma vez que nenhuma mortalidade foi observada em ratos, assim como nenhum efeito adverso foi observado pelo consumo da proteína HAHB4.

A proteína PAT é expressa em inúmeras culturas transgênicas que foram aprovadas para sua liberação comercial (ver, por exemplo, EFSA, 2007a, b e

c, 2011 e 2013). Essas aprovações incluíram abundante informação e dados sobre as características físico-químicas da proteína PAT que confirmam a carência de propriedades alergênicas ou tóxicas, incluindo a sua digestibilidade, sensibilidade térmica e ausência de toxicidade (Hérouet et al., 2005). A ausência de ações tóxicas atribuíveis a proteína PAT tem sido amplamente verificada ao longo de quase 20 anos de consumo de diversas culturas geneticamente modificada que possuem o gene e que expressam a proteína PAT (CERA, 2011, 2012).

Os níveis de expressão da proteína HAHB4 foram determinados em sementes de trigo e tecido foliar colhidas de ensaios de campo na Argentina (2012-2013). Um método LC-MS / MS específico e sensível foi desenvolvido e validado para detectar os baixos níveis esperados deste fator de transcrição. Como esperado para um fator de transcrição, os níveis de expressão da proteína HAHB4 no evento de trigo IND-00412-7 estavam abaixo do limite inferior de quantificação (LLOQ). Isso sugere que o evento de trigo IND-00412-7 não contém níveis de proteína transgênica que possam afetar negativamente organismos não-alvo, pois a expressão do gene HaHB4 no evento de trigo IND-00412-7 é extremamente baixa. Assim, a proteína HAHB4 não têm potencial para produzir efeitos adversos nos níveis de exposição no campo sobre espécies representativas de invertebrados benéficos.

A análise composicional do evento de trigo IND-00412-7 foi realizada seguindo o documento de consenso da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) (2003a). Foram determinados 45 componentes (nutrientes, micronutrientes, vitaminas, minerais e antinutrientes) em amostras de grão e forragem procedentes do evento transgênico IND-00412-7, do controle parental convencional Cadenza, e de um conjunto de variedades comerciais de referência, obtidas de ensaios de campo realizados em seis localidades diferentes da Argentina. Considerando a variabilidade natural que apresenta a composição das culturas de trigo, a composição do trigo IND-00412-7 foi substancialmente equivalente à composição de seu controle parental convencional e/ou estava dentro da variabilidade natural das variedades comerciais de referência e/ou dentro do intervalo reportado na literatura.

Aspectos relacionados à Saúde Humana e dos Animais e Segurança Alimentar:

O girassol é cultivado e consumido no Brasil. O Estado de Mato Grosso (MT) é responsável por aproximadamente 51% da área semeada com girassol no Brasil. Goiás (16.600 ha) e Minas Gerais (9.300 ha) são o segundo e o terceiro produtor, respectivamente (CONAB, 2018). A respeito da inocuidade da proteína HAHB4, originada nesse organismo doador, é relevante mencionar

que HAHB4 é um fator de transcrição (FT) natural de girassol, cultura que tem sido parte da alimentação humana há séculos e que não tem sido identificada como uma fonte significativa de alérgenos. Segundo as observações experimentais realizadas, o HAHB4 é expresso naturalmente em girassol, em condições de estresse hídrico, salino, em escuridão e perante ataque de insetos, constituindo um dos pilares da planta na sua defesa contra fatores ambientais (Gago et al., 2002; Manavella et al., 2008a, b e c). O HAHB4 é, assim, um componente natural da alimentação humana e animal.

Os efeitos dos genes introduzidos no trigo IND-ØØ412-7 estão restritos à tolerância a fatores ambientais adversos (proteína expressa HAHB4) e tolerância a herbicidas a base de glufosinato de amônio (proteína PAT). A extensiva análise da proteína HAHB4 confirma a sua segurança na alimentação humana e animal. Esta conclusão baseia-se em evidências de múltiplas fontes:

- a) origem do gene a partir de vegetal já utilizado na alimentação humana e histórico de uso e exposição;
- b) avaliação da digestibilidade e estabilidade térmica da proteína HAHB4 em ensaio *in vitro*;
- c) comparações de bioinformática da sequência de aminoácidos com toxinas, alérgenos e sequências alergênicas conhecidas;
- d) estado de glicosilação;
- e) estudo de toxicidade oral da proteína HAHB4; e
- f) nível de proteína HAHB4 em forragem e grão de trigo IND-ØØ412-7.

O ensaio *in vitro* de fluido gástrico simulado revelou uma rápida degradação da proteína HAHB4. Não foram observados fragmentos de proteína após os primeiros 30 segundos de digestão. A proteína HAHB4 não se fragmentou durante a exposição a ciclos de calor prolongados, o que permite que a proteína seja observada através de análises SDS-PAGE. Houve uma ligeira alteração na mobilidade eletroforética após um curto período a 90°C, o que não foi significativo. Pesquisas de bioinformática não revelaram homologia de HAHB4 com proteínas alergênicas ou tóxicas conhecidas. Os resultados indicam a improbabilidade de que a proteína HAHB4 cause uma reação alérgica em seres humanos ou que seja tóxica para seres humanos ou animais e, portanto, é segura para consumo humano e animal.

A proteína HAHB4 é expressa em quantidades muito baixas no trigo HB4, é rapidamente degradada no trato digestivo e não interage com sistemas

biológicos próprios de animais, incluído o reprodutor. A proteína PAT está na dieta humana faz quase 20 anos e nunca foram reportados efeitos adversos sobre a gestação em animais que consomem as quantidades presentes nas culturas que expressam a proteína. Ambos os produtos têm características que comprovam sua inocuidade e têm histórico de uso seguro, por isso é bem pouco provável que causem algum efeito nocivo em animais.

Fatores de transcrição (FT) são proteínas que controlam a expressão de outros genes. Como o trigo HB4 superexpressa um FT que afeta, entre várias categorias gênicas, alguns genes que codificam inibidores de alfa-amilase e tripsina (vários desses genes estão envolvidos em alergias causadas pelo consumo de farinha de trigo), foi pedido à requerente que realizasse uma análise do transcriptoma por RNA-Seq dos grãos de trigo não transgênico e HB4. Dessa maneira, seria possível avaliar quais genes tiveram seu padrão de expressão alterado pela ação do FT HB4, os processos biológicos a eles associados e particularmente se genes com potencial alergênico foram afetados.

Em atendimento à diligência da CTNBio, a requerente realizou um experimento em câmara de crescimento, coletando grãos de trigo entre 14 e 21 dias após a antese, de plantas dos genótipos Cadenza (não transgênico) e HB4 (transgênico) submetidos à seca e também mantidos sob irrigação normal.

Após o sequenciamento e geração de dados de RNA-Seq, a análise de expressão diferencial foi feita utilizando-se a ferramenta EdgeR. Genes foram considerados diferencialmente expressos em comparações de pares (entre genótipos e entre condições de seca/irrigação dentro do mesmo genótipo) quando houve uma variação do valor logarítmico de *fold change* maior que 1 ou menor que -1. O número de genes diferencialmente expressos, em cada uma das comparações entre genótipos e condições de seca/irrigação, é apresentado na Tabela 1. Além disso, na mesma tabela, ao lado da coluna com o número total de genes diferencialmente expressos, encontra-se uma coluna que informa quantos desses genes são descritos como potencialmente alergênicos, de acordo com o trabalho de Juhász et al. (2018).

Tabela 1. Número de genes diferencialmente expressos entre HB4 e Cadenza nas diferentes condições de seca (estresse) e irrigação (N).

Comparação	Genes Regulados Positivamente		Genes Regulados Negativamente	
	Total	Juhász et al. (2018)	Total	Juhász et al. (2018)
HB4 vs Cad (irrigação)	258	19	62	1
HB4 vs Cad (seca)	69	2	82	2
Cad seca vs Cad irrigação	1667	101	2420	6

HB4 seca vs HB4 irrigação	574	100	1600	6
---------------------------	-----	-----	------	---

Para que se pudesse avaliar a quais processos biológicos os genes diferencialmente expressos estão associados, foi feita uma análise de anotação de ontologia gênica, utilizando-se a ferramenta BLast2Go. Os genes que são superexpressos no genótipo Cadenza, na condição de seca comparada à condição irrigada, estão envolvidos em processos biológicos relacionados principalmente à fotossíntese, produção de óxido nítrico (estratégia associada à proteção ao estresse hídrico), modificação da parede celular, resposta à escassez hídrica e controle da conformação proteica. O genótipo HB4 também apresenta genes superexpressos relacionados a vários desses mesmos processos biológicos identificados no Cadenza. Dentre um total de 18 processos biológicos relacionados a alterações na expressão gênica no trigo HB4 durante a seca, 14 são comuns aos processos biológicos afetados no genótipo Cadenza, indicando o uso de estratégias semelhantes pelos dois genótipos na resposta ao déficit hídrico.

Com relação à expressão específica de genes que codificam proteínas com potencial alergênico, ambos os genótipos superexpressam número semelhante de genes, 100 e 101 genes no trigo HB4 e no trigo Cadenza, respectivamente, em condições de seca. A análise dos níveis de expressão revela que os valores observados no genótipo HB4 em condição de seca são semelhantes aos encontrados não só no genótipo Cadenza como também em outros genótipos de trigo descritos na literatura e disponíveis no banco de dados *Wheat-Expression* (www.wheat-expression.com).

A comparação de genes diferencialmente expressos entre os dois genótipos na condição irrigada revelou que 258 genes estão superexpressos no trigo HB4. Esses genes estão envolvidos principalmente em processos fotossintéticos. Já na condição de seca, os genes superexpressos no genótipo HB4 em relação ao Cadenza estão relacionados a mecanismos de síntese de óxido nítrico, sugerindo que esse talvez seja uma das razões da maior tolerância do trigo transgênico à seca, uma vez que o óxido nítrico é sabidamente um sinalizador importante de resposta à estresse hídrico em plantas, contribuindo também para a detoxificação celular de espécies reativas de oxigênio.

A comparação entre genótipos na condição irrigada revelou que 19 genes que codificam proteínas com potencial alergênico são superexpressas no trigo HB4 em relação ao Cadenza. No entanto, os valores de expressão desses genes no trigo HB4 são menores do que os encontrados em outros genótipos de trigo, disponíveis no banco de dados *Wheat-Expression* (www.wheat-expression.com). Uma variação da expressão dentro da variabilidade natural

encontrada entre diversos genótipos de trigo também foi observada nos dois genes que codificam proteínas com potencial alergênico superexpressos no trigo HB4 em relação ao Cadenza na condição de seca.

Dessa maneira, após uma avaliação detalhada do transcriptoma do grão de trigo na fase de maior acúmulo de proteínas de reserva (muitas delas com potencial de causar alergias em seres humanos), esse estudo revelou que os valores de expressão encontrados nos genes superexpressos no trigo HB4 estão dentro do intervalo de valores observados em diversos outros genótipos de trigo. Revelou também que a condição de estresse hídrico/irrigação é a principal responsável pela variação nos níveis de expressão gênica. Além disso, a maioria dos processos biológicos afetados no trigo HB4 em condições de seca também é alterada no trigo Cadenza. Assim, com base na análise de risco realizada a partir dos dados apresentados pelo proponente, presentes na literatura científica, trazidos à CTNBio por especialista, aportados durante a audiência pública e por outros interessados, a CTNBio avaliou que a farinha produzida a partir do trigo HB4 é similar à farinha produzida a partir de genótipos de trigo convencionais em relação a segurança à saúde humana e animal.

Conclusão:

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 farinha de trigo geneticamente modificado, evento IND-ØØ412-7 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 farinha de trigo geneticamente modificado, evento IND-ØØ412-7 é substancialmente equivalente à farinha de trigo convencional, sendo seu consumo seguro para a saúde humana e animal. 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.

Deliberação:

A CTNBio decidiu, por unanimidade, aprovar a comercialização da farinha do trigo geneticamente modificado evento IND-ØØ412-7 para importação e uso exclusivo em alimentos, rações ou produtos derivados.

Referências:

CERA (2011). A Review of the Environmental Safety of the PAT Protein. Center for Environmental Risk Assessment, ILSI Research Foundation, Washington D.C. USA;

CERA (2012). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. http://ceragmc.org/index.php?action=gm_crop_database;

Codex Alimentarius. Foods derived from modern biotechnology. 2009. FAO and WHO. ISSN 0259-2916. Second edition;

CONAB (2018a). Observatório Agrícola. Acompanhamento da Safra Brasileira. Grãos.V. 5 - Safra 2017/18- N. 4 - Quarto levantamento. Janeiro 2018;

EFSA (2007a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (reference EFSA-GMO-UK-2004-04) for the placing on the market of glufosinate tolerant genetically modified rice LLRICE62 for food and feed uses, import and processing, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience GmbH;

EFSA J 588: 1–25. 83 EFSA (2007b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-12) for the placing on the market of insect-resistant genetically modified maize 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003, from Pioneer Hi-Bred International, Inc. and Mycogen Seeds, c/o Dow Agrosciences LLC. EFSA J 470: 1-25;

EFSA (2007c). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-18) for the placing on the market of the glufosinate tolerant soybean A2704-12, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience. EFSA J 524: 1–22;

EFSA (2011). Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-NL-2008-52) for the placing on the market of herbicide tolerant genetically modified soybean A5547-127 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience. EFSA J 9: 2147;

EFSA J 10: 2875. EFSA (2013). Scientific Opinion on application EFSA-GMO-NL-2011-97 for the placing on the market of insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified cotton T304-40 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience AG. EFSA J 11(6):3251;

Gago GM, Almoguera C, Jordano J, González DH e Chan RL (2002). Hahb-4, a homeobox-leucine zipper gene potentially involved in ABA-dependent responses to water stress in sunflower. *Plant Cell Environ* 25: 633-640;

Hérouet C, Esdaile DJ, Mallyon BA, Debruyne E, Schulz A, Currier T, Hendrickx K, van der Klis R-J e Rouan D (2005). Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regul Toxicol Pharmacol* 41: 134–149;

Huang, J.; Liu, C.; Wang, Y.; Wang, C.; Xie, M.; Qian, Y.; Fu, L. (2018) Application of *in vitro* and *in vivo* models in the study of food allergy. *Food Sci. Hum. Wellness*, 7, 235–243;

Joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission (2009) Codex alimentarius. Foods derived from modern biotechnology. Rome: World Health Organization: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2009, 76 p.; 2nd edition;

Juhász A, et al.; International Wheat Genome Sequencing Consortium (2018) Genome mapping of seed-borne allergens and immunoresponsive proteins in wheat. *Sci Adv*, 4:r8602;

Junker, Y., Zeissig, S., Kim, S. J., Barisani, D., Wieser, H., Leffler, D. A., Zevallos, V., Libermann, T. A., Dillon, S., Freitag, T. L., Kelly, C. P., & Schuppan, D. (2012). Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of toll-like receptor 4. *The Journal of Experimental Medicine*, 209(13), 2395–2408. <https://doi.org/10.1084/jem.20102660>;

Manavella, P. A., Arce, A. L., Dezar, C. A., Bitton, F., Renou, J. P., Crespi, M., et al. (2006). Cross-talk between ethylene and drought signalling pathways is mediated by the sunflower Hahb-4 transcription factor. *Plant J.* 48, 125–137. doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02865.x;

Manavella, P. A., Dezar, C. A., Bonaventure, G., Baldwin, I. T., Chan, R. L. (2008). HAHB4, a sunflower HD-Zip protein, integrates signals from the jasmonic acid and ethylene pathways during wounding and biotic stress

responses. *Plant J.*, 56, 376–388. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03604.x>;

Manavella PA, Dezar CA, Ariel FD, Drincovich MF e Chan RL (2008a). The sunflower HD-Zip transcription factor HAHB4 is up regulated in darkness acting as a repressor of photosynthesis related genes transcription. *J Exp Bot* 59: 3143-3155;

Manavella PA, Dezar CA, Bonaventure G, Baldwin IT e Chan RL (2008b). HAHB4, a sunflower HD-Zip protein, integrates signals from the jasmonic acid and ethylene pathways during wounding and biotic stress responses. *The Plant J* 56: 376–388. 85;

Manavella PA, Dezar CA e Chan RL (2008c). Two ABREs, two redundant root-specific and one W-box cis-acting elements are functional in the sunflower HAHB4 promoter. *Plant Physiol. Biochem* 46: 860-867;

OECD (2003a). Consensus document on compositional considerations for new varieties of bread wheat (*Triticumaestivum*): key food and feed nutrients, anti-nutrients and toxicants. ENV/JM/MONO(2003). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology. Environment Directorate.Organisation for Economic Co-operation and Development. Paris, Francia;

Palacin, A., Quirce, S., Armentia, A., Fernández-Nieto, M., Pacios, L.F. et al. Wheat lipid transfer protein is a major allergen associated with baker's asthma (2007) *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 120 (5), pp. 1132-1138;

Palena, C.M., Gonzalez, D.H. and Chan, R.L. (1999). A monomer-dimer equilibrium modulates the interaction of the sunflower homeodomain leucine-zipper protein Hahb-4 with DNA. *Biochem. J.*, 341, 81– 87;

Pfeifer, M., Kugler, K.G., Sandve, S.R., Zhan, B., Rudi, H., Hvidsten, T.R., Mayer, K.F., Olsen, O.A. (2014). Genome interplay in the grain transcriptome of hexaploid bread wheat. *Science*, 345: 1250091;

Preuss SB, Meister R, Xu Q, Urwin CP, Tripodi FA, Screen SE, et al. (2012) Expression of the *Arabidopsis thaliana* BBX32 Gene in Soybean Increases Grain Yield. *PLoS ONE* 7(2): e30717. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030717>;

Ribichich KF, Chiozza M, Ávalos-Britez S, et al. 2020. Successful field performance in warm and dry environments of soybean expressing the sunflower transcription factor HB4. *Journal of Experimental Botany* 71, 3142–3156;

Rice EA, Khandelwal A, Creelman RA, Griffith C, Ahrens JE, Taylor JP, et al. (2014) Expression of a Truncated ATHB17 Protein in Maize Increases Ear Weight at Silking. PLoS ONE 9(4): e94238. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094238>;

Shahbazkhani, B., Fanaeian, M.M., Farahvash, M.J. et al. Prevalence of Non-Celiac Gluten Sensitivity in Patients with Refractory Functional Dyspepsia: a Randomized Double-blind Placebo Controlled Trial. Sci Rep 10, 2401 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59532-z>;

Stoger, E., Williams, S., Keen, D. *et al.* (1999). Constitutive versus seed specific expression in transgenic wheat: temporal and spatial control. Transgenic Res, 8, 73–82;

Wu J, Lawit SJ, Weers B, Sun J, Mongar N, Van Hemert J, Melo R, Meng X, Rupe M, Clapp J, Haug Collet K, Trecker L, Roesler K, Peddicord L, Thomas J, Hunt J, Zhou W, Hou Z, Wimmer M, Jantes J, Mo H, Liu L, Wang Y, Walker C, Danilevskaya O, Lafitte RH, Schussler JR, Shen B, Habben JE. Overexpression of zmm28 increases maize grain yield in the field. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Nov 19;116(47):23850-23858. doi: 10.1073/pnas.1902593116;

Yu, Y.L, Zhu, D., Ma, C.Y., Cao, H., Wang, Y.P., Xu, Y.H., Zhang, W.Y, Yan Y.M. (2016). Transcriptome analysis reveals key differentially expressed genes involved in wheat grain development. The Crop Journal, 4, 92–106;

Data: 16/11/2021

Dr. Paulo Augusto Vianna Barroso
Presidente da CTNBio