



**COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA  
PARECER TÉCNICO Nº 195/2023/SEI-CTNBio - Membros**

**PARECER TÉCNICO: 8407/2023**

**Processo:** 01250.014650/2019-71

**Data de Protocolo:** 11/11/2022

**Assunto:** Liberação Comercial de trigo geneticamente modificado.

**Requerente:** Tropical Melhoramento e Genética S.A.

**CQB:** 284/09

**CNPJ:** 06.331.414/0001-80

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

**Extrato Prévio:** 8609/2022

**Decisão:** Deferido

**Reunião:** 259ª Reunião Ordinária ocorrida em 02/03/2023

**Título:** Liberação comercial do trigo geneticamente modificado, evento HB4.

**Identificação do OGM**

**Designação do OGM:** Trigo HB4 (IND-00412-7)

**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 (denominado de HB4) 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:** cultivo, produção, manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, liberação e descarte deste OGM.

**Resumo da Fundamentação Técnica:**

**1. Informações Gerais**

O Brasil é produtor de trigo e consumidor dos produtos derivados do seu processamento. Devido a demanda de consumo brasileira ser maior que a produção nacional, o Brasil é importador de trigo. As importações de trigo são principalmente na forma de grãos (CONAB, 2018). O trigo importado pelo Brasil vem principalmente da Argentina, origem de 84% do grão importado em 2017 (CONAB, 2018). Outros

países que fornecem trigo ao Brasil são: Paraguai com 7%, Estados Unidos com 6% e Canadá com 3% do grão total importado em 2017.

O trigo contendo o evento Trigo HB4 já está aprovado comercialmente para cultivo na Argentina. E também para consumo humano na Austrália, Brasil (Parecer Técnico CTNBIO 7795/21), Colômbia, Estados Unidos, Nova Zelândia, Nigéria e África do Sul. A aprovação para cultivo no Brasil foi solicitada. A proposta de liberação comercial do Trigo IND-00412-7, contendo o evento HB4, foi elaborada segundo a Resolução Normativa N°32, de 15 de junho de 2021, que dispõe sobre normas para liberação comercial de organismos geneticamente modificados e seus derivados.

O evento de Trigo HB4 foi desenvolvido pela empresa argentina Bioceres. No Brasil, a Bioceres e a empresa Tropical Melhoramento e Genética (TMG) firmaram parceria para viabilizar o uso deste evento geneticamente modificado no país. Através dessa parceria, a TMG teve acesso aos estudos realizados em outros países, e foi a responsável pelo relatório de biossegurança do Trigo HB4, que foi apresentado à CTNBIO e aprovado pela Comissão, com a finalidade de alimentação humana e animal (Processo CTNBIO 01250.014650/2019-71, Parecer Técnico CTNBIO 7795/2021).

Após obter a aprovação da CTNBio para consumo humano e animal, a TMG realizou Liberações Planejadas no Meio Ambiente (LPMA) no Brasil no ano de 2022, visando obter dados científicos de avaliação de risco a fauna e flora brasileiras. Foram testados a campo o Trigo HB4, o controle parental convencional (não geneticamente modificado) e variedades comerciais (Padrões de referência). O trigo cultivado é composto por diversas espécies do gênero *Triticum*, sendo que nenhuma delas é nativa do território brasileiro. Também não há registros de outros gêneros nativos que possuem espécies sexualmente compatíveis com o trigo cultivado.

A partir dos resultados das LPMAs, a empresa solicita a liberação comercial para cultivo, produção, manipulação, transporte, transferência, comercialização, importação, exportação, armazenamento, liberação e descarte do Trigo HB4.

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 e agora no Brasil.

## **2. Descrição do OGM e Proteínas Expressas**

O Trigo IND-00412-7 (HB4) foi obtido através da metodologia de bombardeamento de micropartículas, utilizado um método de co-transformação com dois plasmídeos - pIND4-HB4 e o pIND4-Bar - que utilizam o vetor pUC8 como base. O plasmídeo pIND4-HB4 tem uma região de policlonagem da qual foi utilizado o sítio de restrição de BamHI para inserir a sequência codificante (CDS) do gene HaHB4. O plasmídeo pIND4-Bar também foi construído ligando as regiões regulatórias de Ubi-1 à região codificante do gene bar de *S. hygroscopicus* no local BamHI. Nenhum dos genes utilizados para gerar o evento HB4 introduz características com influência no metabolismo vegetal além dos efeitos pretendidos. Ambos os genes já são amplamente conhecidos e não apresentam nenhum efeito adverso à saúde humana e animal.

A proteína HAHB4 no Trigo HB4 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-proteína e dimerização. A proteína não possui nenhuma função inseticida ou de tolerância a herbicida e atua principalmente em resposta a estresses abióticos, particularmente em vias sinalizadas por etileno. A proteína PAT em HB4 confere às plantas o fenótipo de tolerância a herbicidas baseados em glufosinato de amônio, através da expressão da proteína fosfinotricina N-acetil-transferase.

Foi realizada análise molecular para determinar a sequência do inserto no evento HB4, confirmando a presença dos seguintes elementos:

Componentes desejados da inserção:

prUbi-1 promotor do gene Ubi-1 de milho

Ubi-1 exon: extremidade 5' não traduzida do exon do gene Ubi-1 de milho

Ubi-1 Íntron: primeiro íntron do gene Ubi-1 de milho

CDS HaHB4: sequência codificante do gene HaHB4

Tnos: terminador da transcrição da nopalina sintetase

CDS bar: sequência codificante do gene bar

Elementos acessórios (“backbone”) procedentes dos vetores que foram utilizados na transformação:

pBR322 origin: origem de replicação derivada do plasmídeo pBR322 CDS bla: sequência codificante da  $\beta$ -lactamase de *E.coli* (marcador de seleção do vetor)

Como consequência do uso da técnica de bombardeamento de micropartículas para a obtenção do Trigo HB4, produziram-se vários rearranjos na disposição dos elementos incluídos nos vetores utilizados. Esses rearranjos, que incluem deleções, inserções e inversões, são frequentes nas transformações feitas com essa técnica (Alpeter et al., 2005), e também são produzidos nos processos de cruzamento tradicionais (Doebley et al., 2006; Lenser e Theiben, 2013; Sang, 2009; Koenig et al., 2013). Não foram evidenciados efeitos negativos derivados dessas modificações.

Elementos adicionais:

prGbl1-1: promotor de globulina 7S de trigo

CDS gus: sequência que codifica para  $\beta$ -glucuronidase de *E.coli*

T35S CaMV: terminador da transcrição do vírus do mosaico da couve-flor

A presença dos elementos adicionais no evento HB4 só foi revelada após uso de modernas técnicas de sequenciamento de nova geração durante a análise da inserção, fato que no passado não poderia ter sido detectado. No entanto, as evidências científicas confirmam a segurança ambiental e alimentar dessas sequências adicionais presentes no evento HB4:

- Os elementos regulatórios necessários para a expressão das correspondentes CDS não estão presentes.
- Para *gus*, tanto a CDS como os elementos reguladores que a acompanham não estão completos. Através de RT-PCR (retrotranscrição seguido pela PCR), utilizando os iniciadores adequados, foi verificada a ausência de transcrição de *gus*.
- A análise de peptídeos que teoricamente poderiam ter sido gerados pela expressão de novas hipotéticas fases de leitura devido à presença de sequências inseridas, revelou a ausência de semelhanças com alérgenos e toxinas.
- A ausência de risco desses elementos também está fundamentada na experiência acumulada com múltiplos eventos transgênicos que contêm *bla* e *gus* e que foram aprovados em vários países.

A caracterização molecular do evento HB4 utilizando diversas tecnologias permitiu verificar a existência de dois insertos: um de 47.611 pb e outro de 20.418 pb. O número de cópias/loais de integração das novas sequências no evento HB4 foi inicialmente analisado através de *Southern Blot*. O DNA genômico foi digerido com três enzimas de restrição: HindIII, BamHI e AseI. Levando em consideração a complexidade da inserção no evento HB4 e as dificuldades analíticas relacionadas com o genoma de trigo (tamanho e ploidia), foram empregadas tecnologias adicionais.

Para reduzir o tamanho do material em análise, foi realizada a identificação e isolamento do cromossomo contendo a inserção. Para identificar o cromossomo, foi utilizada a plataforma DArT (Diversity Arrays Technology, Jaccoud et al., 2001), que permite determinar a diferença entre genomas da mesma espécie sem um conhecimento detalhado do mesmo.

Quando esse procedimento foi feito com o evento HB4, foi encontrada a associação entre o transgene HaHB4 com o marcador Gpw3105 localizado no cromossomo 2D. Depois de identificar o cromossomo que tinha a inserção, o mesmo foi isolado através de citometria de fluxo (“chromosome sorting”, Doležel et al., 1989; Vra'na et al., 2000; Suchánková et al., 2006; Šimková et al., 2008).

O cromossomo isolado foi utilizado como material de partida para duas tecnologias de sequenciamento “de nova geração”: Illumina HiSeq e PacBio. A partir da combinação dessas duas tecnologias, uma que gera leituras longas de baixa cobertura (PacBio) e outra que produz leituras curtas de alta cobertura (Illumina), foi estabelecida a presença de quatro sequências flanqueadoras e dois insertos com estruturas divergentes, o que sugere que correspondem a dois eventos de inserção diferentes. Sendo assim, o evento HB4 apresenta uma cópia completa de HaHB4 com elementos regulatórios funcionais, e duas cópias completas de bar com seus elementos regulatórios na posição correta.

A comparação da sequência da proteína HAHB4 traduzida da entrada original do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), no GenBank com o número de acesso AF339748.1 (Chan e González, 1994), com a sequência traduzida da CDS de HaHB4 inserida no evento HB4, mostra poucas diferenças. Seus efeitos podem ser considerados mínimos e não são esperadas diferenças significativas em relação à inocuidade alimentar da proteína.

Com o objetivo de avaliar os possíveis efeitos dessas alterações na função da proteína HAHB4, foi utilizado o algoritmo “Protein Variation Effect Analyzer” (PROVEAN) (Choi, 2012; Choi et al., 2012). Esse algoritmo prediz os efeitos prejudiciais que podem ter as alterações de aminoácidos sobre a função, com base na análise bioinformática das variantes de mais de 90.000 proteínas (Choi et al., 2012). Nenhuma das alterações encontradas na proteína HAHB4 expressa no evento HB4 tem um efeito significativo. Além disso, foram detectadas algumas mutações adicionais na sequência de DNA, que são silenciosas pois não alteram a sequência de aminoácidos. Considerados conjuntamente, esses resultados sugerem que todas as alterações encontradas na proteína HAHB4 expressa no evento de trigo HB4 são neutras no que se refere à segurança alimentar e às interações no agroecossistema.

O DNA introduzido no trigo HB4 também contém a CDS do gene bar, que confere às plantas o fenótipo de tolerância a herbicidas baseados em glufosinato de amônio, através da expressão da proteína fosfotricina N-acetil-transferase (PAT, Thompson et al., 1987).

As proteínas PAT têm sido amplamente utilizadas na modificação genética de culturas. Sua ação enzimática é altamente específica para o substrato L-fosfotricina. A presença da proteína PAT não afeta os produtos derivados das culturas GM que as expressam e não tem sido demonstrado que tenha efeitos negativos sobre outros organismos, incluindo organismos benéficos para a agricultura (CFIA, 1995, 1996; USDA, 1996). As avaliações regulatórias das culturas que expressam proteínas PAT têm verificado que a expressão não tem um impacto significativo sobre o fenótipo dessas culturas, somente certa tolerância ao glufosinato de amônio (CERA, 2011).

### 3. Segurança alimentar

O evento Trigo HB4 foi aprovado pela CTNBio para uso exclusivo em alimentos, rações ou produtos derivados ou processados, em novembro de 2021 (Parecer Técnico CTNBio 7795/2021). A etapa de aprovação do Trigo HB4 ocorreu após 20 meses de amplas discussões, audiência pública e avaliações criteriosas pelos membros desta Comissão. Por se tratar de hipótese de risco não relacionada a particularidades da fauna ou flora brasileiras (RN32, Art. 11 §2º), os dados apresentados na avaliação da segurança alimentar da farinha, oriunda do Trigo HB4, foram provenientes de estudos realizados na Argentina. Sucintamente, estudos de campo foram conduzidos em 2016, em 3 locais 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. A avaliação dos dados aportados concluiu que (Transcrição do Parecer Técnico CTNBio 7795/2021):

- A expressão da proteína HAHB4 (gene *HaHB4*) ocorre em concentração extremamente baixa, e as estratégias analíticas usuais (Western blot e ELISA) não foram eficientes para quantificar os níveis de proteína HAHB4 em sementes procedentes de Trigo HB4. Desta forma, isso reforça a biossegurança alimentar do evento HB4, já que a proteína HAHB4 apresenta baixíssima expressão nos grãos e sementes do Trigo.

- A análise extensiva da proteína HAHB4 confirma a sua segurança alimentar, nutricional e ambiental. Esta conclusão baseia-se em múltiplas evidências: 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 alergênicas conhecidas; estado de glicosilação; estudo de toxicidade oral da proteína HAHB4; e nível de proteína HAHB4 em forragem e grão de trigo HB4. Assim, a proteína HAHB4 não têm potencial para produzir efeitos adversos nos níveis de exposição no campo sobre espécies representativas de invertebrados benéficos.

- A proteína PAT (gene *bar*) é expressa em inúmeras culturas transgênicas que foram aprovadas para sua liberação comercial. Essas aprovações incluíram abundantes informações sobre as características físico-químicas da proteína PAT que confirmam a ausência de propriedades alergênicas ou tóxicas, incluindo a sua digestibilidade, sensibilidade térmica e ausência de toxicidade. 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.

- Análise composicional do evento de Trigo HB4 foi realizada em amostras de grão e forragem procedentes de ensaios de campo realizados em localidades diferentes da Argentina. Os resultados mostraram que a composição do trigo HB4 é substancialmente equivalente à composição de seu controle parental convencional e/ou está dentro da variabilidade natural das variedades comerciais de referência e/ou dentro do intervalo reportado na literatura.

- Considerando que a proteína HAHB4 é um fator de transcrição, foi realizada a análise do transcriptoma por RNA-Seq em grãos de trigo não transgênico e o Trigo HB4 (entre genótipos e entre condições de seca/irrigação dentro do mesmo genótipo). Após 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), foi observado 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 convencional.

Diante das informações analisadas, o Parecer Técnico CTNBio 7795/2021 conclui que a farinha de trigo geneticamente modificado, evento HB4, é tão segura quanto seus equivalentes convencionais.

#### **4. Estabilidade genética**

Um estudo de segregação foi realizado em populações provenientes do programa de melhoramento de Trigo HB4. Nessa análise, centenas de indivíduos gerados a partir do cruzamento de gerações avançadas do trigo HB4 com três linhas parentais convencionais diferentes foram avaliados quanto a presença de HaHB4, *bar*, *gus*, *bla*, *JPSa*, *JPSb*, *JPLa* e *JPLb*. Os resultados mostraram a co-segregação de todos os elementos analisados e uma proporção de acordo com as leis de Mendel.

A análise de segregação indica que os diferentes componentes presentes no Trigo HB4 são herdados segundo os princípios Mendelianos. A co-segregação deles permite concluir que a inserção, apesar de possuir 2 insertos distintos, se comporta como um loco único. Os resultados apresentam de forma segura de que, apesar de sua complexidade, o evento HB4 é estável.

Os diversos estudos que representam esta análise de risco associados às várias características avaliadas, permite concluir que nenhuma evidência de efeitos pleiotrópicos e epistáticos associado aos genes inseridos foi observada.

A estabilidade genotípica do trigo HB4 foi estudada por PCR. Foram examinadas não apenas a presença dos transgenes HaHB4, *bar* e *bla*, mas também a conservação dos sítios de inserção, analisando as sequências flanqueadoras localizadas em ambos os lados da inserção curta e longa. O tecido foliar de vinte plantas das gerações T5, T6 e T7 foi utilizado para extrair o DNA genômico, que foi utilizado como modelo em reações de PCR. Todas as plantas foram positivas para todos os elementos analisados, o que confirma que a inserção é estável ao longo das gerações.

A probabilidade de que existam interações entre os novos produtos expressos no evento HB4, ou que eles tenham interação com outros processos biológicos da planta é extremamente baixa, levando em consideração que:

- As duas proteínas expressas no evento HB4 (HAHB4 e PAT) não estão relacionadas entre si com respeito a suas respectivas atividades biológicas;
- Os produtos de expressão dos genes codificantes introduzidos no trigo HB4 atuam em diferentes níveis da fisiologia celular;
- Não existe relação entre as reações envolvidas na atividade biológica dos dois produtos de expressão no evento HB4: a proteína HAHB4 se liga a complexos transcricionais que incluem a RNA polimerase, ativando a maquinaria transcricional de genes envolvidos na resposta ao estresse. A enzima PAT catalisa a N-acetilação da fosfotricina;
- Os produtos de expressão dos genes introduzidos no evento HB4 agem em compartimentos celulares diferentes;
- As formas de ação das duas proteínas novas expressas no evento HB4 não estão relacionadas entre si.

Isso permite assegurar que não existe fundamento científico para estabelecer uma hipótese de risco baseada em uma hipotética interação entre os principais genes introduzidos no trigo HB4, entre seus produtos de expressão ou em alterações que possam causar no perfil de expressão de outros genes do Trigo, que exija a comprovação experimental de ausência de dano.

## 5. Segurança ao meio ambiente

O trigo hexaplóide (*Triticum aestivum* L.) é originário da região denominada "Crescente Fértil", região histórica do Sudoeste Asiático, que corresponde a parte dos territórios do Iraque, Irã, Israel, Jordânia, Síria, Turquia e Sul do Cáucaso. O trigo cultivado é composto por diversas espécies do gênero *Triticum*, sendo que nenhuma delas é nativa do território brasileiro. Também não há registros de parentes silvestres ou outros gêneros nativos que possuem espécies sexualmente compatíveis com o trigo cultivado.

A reprodução natural do trigo se dá predominantemente por autofecundação (>99%) (autogamia) devido, principalmente, a mecanismos em que a polinização ocorre quando as flores ainda estão fechadas (cleistogamia). Dependendo da cultivar de trigo, caso não ocorra a autofecundação, a flor poderá se abrir e possibilitar a fecundação cruzada (<1%) (Okada et al., 2018). Neste caso, a dispersão do pólen pelo vento, nas plantas de trigo, é dificultada devido ao pólen ser proporcionalmente mais pesado em comparação ao de outras gramíneas (LELLEY, 1966). Além disso, em condições naturais, o pólen do trigo só mantém sua viabilidade por até 30 minutos (OECD, 1999). Em estudo a campo na Suíça, utilizando linhagens geneticamente modificadas e não-GM de trigo, obteve-se uma taxa geral de cruzamento de 3,36 %, e o fluxo gênico diminuiu de 0,7 para 0,03% nas distâncias de 0,5 a 2,5 m da fonte doadora de pólen, respectivamente (Rieben et al., 2011).

Em estudos de morfologia e fertilidade de grãos de pólen do Trigo HB4 (Apêndice A3, Pg. 97), observa-se que não houve diferenças significativas entre a viabilidade polínica e características morfológicas do pólen do Trigo HB4, seu controle parental convencional (Cadenza) e variedades comerciais de referência (Tab. A3.1). O pólen do Trigo HB4 apresentou um menor tamanho ( $72,9 \pm 0,8 \mu\text{m}$ ) comparado ao trigo parental ( $77 \pm 1 \mu\text{m}$ ). Contudo, o tamanho do pólen do Trigo HB4 encontra-se dentro do intervalo de dimensões observadas em variedades comerciais, variando de 64,5 a 77,1  $\mu\text{m}$ . Os experimentos foram realizados em casa de vegetação durante o inverno e primavera de 2013, na cidade de Rosário (Argentina).

O teste de germinação das sementes foi conduzido pela empresa TMG, utilizando sementes de Trigo HB4, do controle convencional e de quatro referências comerciais foi realizado na cidade de Cambé/PR, segundo as regras para análise de sementes (MAPA, 2009). Os resultados indicaram não ocorrer diferenças significativas entre o Trigo HB4 e seu parental convencional, quanto a: germinação de sementes normais, anormais e não germinadas.

Considerando a filogenia e a biologia reprodutiva do trigo, não é esperado que existam plantas nativas compatíveis com o trigo, reduzindo a possibilidade de ocorrer a transferência dos genes exógenos do Trigo HB4 para parentes silvestres. Da mesma forma, as plantas de trigo apresentam baixo fluxo gênico, reduzindo as chances de transferência vertical, mesmo para plantas próximas (menos de 1 m distância).

Considerando a hipótese da ocorrência de transferência vertical, é improvável que as características proporcionadas pelos genes *HaHB4* e *bar* (proteína PAT) venham a conferir vantagens seletivas indesejadas ou comportamentos atípicos à planta receptora, em comparação as plantas convencionais de trigo. Neste sentido, os resultados obtidos nas avaliações das características agronômicas, fenotípicas e ambientais, demonstram que o Trigo HB4 não difere do seu controle parental convencional e de cultivares comerciais de referência, apenas com exceção das características de tolerância ao déficit hídrico e tolerância a herbicidas baseados em glufosinato de amônio.

A caracterização do solo foi realizada nos experimentos localizados em Cambé/PR e Uberlândia/MG. As amostras de solo das parcelas experimentais foram retiradas em duas profundidades: 0-20 cm e 20-60 cm. As amostras foram analisadas quanto às propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Avaliações agronômicas em LPMA demonstraram não haver diferenças entre os tratamentos testados (Trigo HB4 e Controle parental não GM) para os parâmetros: número de dias para emergência, estande de plantas, vigor de plântulas, número de dias para espigamento, acamamento de plantas, biomassa aérea, número de espigas/m<sup>2</sup>, peso de grãos da amostra de biomassa e produtividade de grãos.

Desta forma, observa-se que a introdução do gene *HaHB4* no genoma do trigo não alterou suas características agronômicas, em comparação com o controle parental convencional ou em relação a intervalos de valores esperados para cultivares de trigos convencionais.

Foram realizados estudos de danos causados por doenças e insetos no Trigo HB4, em LPMA localizadas em Cambé (PR) e Uberlândia (MG). As avaliações foram realizadas em todas as parcelas experimentais, em três estádios de desenvolvimento das plantas. Não foram observadas diferenças significativas em relação à suscetibilidade a doenças entre o Trigo HB4 e o controle parental convencional. Também não se observou diferenças significativas nos danos de desfolha causados por insetos entre o Trigo HB4 e o controle parental convencional nos três estádios fenológicos dos ambientes avaliados.

Em relação à avaliação de incidência de artrópodes em Cambé (PR) e Uberlândia (MG), foi observado um total de sete diferentes espécies de artrópodes nos ambientes avaliados (Tab. A1 20, Pg.58). Os insetos praga encontrados, foram identificados até o nível de espécie. Dos sete artrópodes identificados e quantificados nas parcelas, quatro deles (*Diabrotica speciosa*, *Dalbulus maidis*, *Spodoptera frugiperda* e *Euschistus heros*) foram encontrados em todos os ambientes. As espécies de afídeos, *Sitobion avenae* e *Metopolophium dirhodum* ocorreram exclusivamente nos ensaios de Cambé. Como resultado, observa-se que a introdução do gene *HaHB4* no genoma do trigo não alterou a suscetibilidade a doenças, nem a interação entre os insetos-praga, ou outros artrópodes nas plantas do Trigo HB4 em comparação com o controle parental convencional.

Além disso, no estudo de avaliação composicional do Trigo HB4, apresentado e aprovado pela CTNBio (Processo 01250.014650/2019-71, Parecer Técnico 7795/2021), quando da avaliação do Dossiê para alimentação humana e animal, não houve diferença significativa entre o Trigo HB4 e o trigo convencional, demonstrando que eles possuem equivalência substancial. Pelas evidências apresentadas quanto ao comportamento agrônômico e equivalência ao trigo convencional, é pouco provável que as características inseridas no Trigo HB4 (proteínas *HAHB4* e PAT), causem alguma mudança na biodegradabilidade da planta, quando comparada a outras cultivares de trigo não-GM.

Após uma avaliação detalhada das informações trazidas à CTNBio durante audiência pública, disponíveis na literatura científica e presentes no processo depositado na CTNBio, empregando critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco ao meio ambiente, a CTNBio concluiu que o Trigo HB4 (IND-00412-7) é tão seguro quanto seus equivalentes convencionais.

Foi realizada a avaliação das unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias e fungos em amostras de solo onde estavam dispostos os diferentes tratamentos do ensaio de trigo *HAHB4*. As amostras foram coletadas após a colheita do ensaio contendo o tratamento com o trigo IND-00412-7, seu controle parental convencional e demais cultivares comerciais. O objetivo do estudo foi avaliar o impacto que o

plantio do trigo IND-00412-7 pode causar à microbiota do solo em comparação ao controle parental convencional. Os resultados demonstram não haver efeito a presença ou não do evento de trigo geneticamente modificado IND-00412-7 sobre a composição da microbiota do solo quando comparado ao controle parental convencional.

### **Parecer Final:**

Diante do exposto, considerando os critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco de vegetais geneticamente modificadas é possível concluir que o trigo geneticamente modificado, evento IND-00412-7 é tão seguro 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 o trigo geneticamente modificado, evento IND-00412-7 é substancialmente equivalente ao 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.

Dado não ter sido identificado risco não negligenciável e o OGM e seus derivados serem da classe de risco 1, a CTNBio isenta a requerente de monitoramento pós-liberação comercial com base no parágrafo primeiro do artigo 18 da Resolução Normativa 32 da CTNBio, que dispõe que os *OGM* e seus derivados da Classe de Risco 1 liberados para uso comercial estarão isentos de monitoramento pós-liberação comercial.

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, textos e informações trazidas à CTNBio durante audiência pública, bem como as análises já realizadas em outros países pelos respectivos órgãos de regulamentação de organismos geneticamente modificados.

**Data:** 06/03/2023

(assinado eletronicamente)  
**Dr. Paulo Augusto Vianna Barroso**  
**Presidente da CTNBio**

### **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;

CFIA (1995). Decision Document DD95-01: Determination of Environmental Safety of Agrevo Canada Inc.'s Glufosinate Ammonium-Tolerant Canola. Canadian Food Inspection Agency (CFIA) Ottawa, Canada.

CFIA (1996). Decision document DD96-09: Determination of environmental safety of event 176 Bt corn (*Zea mays* L.) developed by Ciba Seeds and Mycogen Corporation. Canadian Food Inspection Agency (CFIA) Ottawa, Canada. <http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dd/dd9609e.shtml>

Chan RL, Gonzalez DH (1994). A cDNA encoding an HD-zip protein from sunflower. *Plant Physiol* 106: 1687-1688.

Choi Y (2012). A fast computation of pairwise sequence alignment scores between a protein and a set of single-locus variants of another protein. In *Proceedings of the ACM Conference on Bioinformatics, Computational Biology and Biomedicine* (Orlando, Florida: ACM), pp. 414-417.



- Choi Y, Sims GE, Murphy S, Miller JR, Chan AP (2012). Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PloS one* 7: e46688.
- CONAB (2018). Observatório Agrícola. Acompanhamento da Safra Brasileira. Grãos.V. 5 – Safra 2017/18-N. 4 - Quarto levantamento. Janeiro 2018;
- CTNBIO. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Liberação Comercial da soja geneticamente modificada tolerante a herbicidas e a seca. Parecer Técnico 6540/2019.
- CTNBIO. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Liberação Comercial da farinha de trigo geneticamente modificado, evento IND-ØØ412- 7. Parecer Técnico 7795/2021.
- Doebley JF, Gaut BS e Smith BD (2006). The Molecular Genetics of Crop Domestication. *Cell* 127: 1309-1321.
- Doležel J, Binarová P e Lucretti S (1989). Analysis of nuclear DNA content in plant cells by flow cytometry. *Biol Plant* 31: 113-120.
- Jaccoud D, Peng K, Feinstein D e Kilian A (2001). Diversity Arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids Res* (29): No. 4 e25.
- Koenig D, Jiménez-Gómez JM, Kimura S, Fulop D, Chitwood DH, Headland LR, Kumar R, Covington MF, Devisetty UK, Tat AV, Tohge T, Bolger A, Schneeberger K, Ossowski S, Lanz C, Xiong G, Taylor-Teeples M, Brady SM, Pauly M, Weigel D, Usadel B, Fernie AR, Peng J, Sinha NR e Maloof JN (2013). Comparative transcriptomics reveals patterns of selection in domesticated and wild tomato. *Proc Nat Acad Sci USA* 110: E2655-2662.
- Lelley J (1966). Observations on the biology of fertilisation with regard to seed production in hybrid wheat. *Die Zuchter* 36:314-316.
- Lenser T e Theiben G (2013). Molecular mechanisms involved in convergent crop domestication. *Trends Plant Sci* 18: 704-714.
- 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;
- 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;
- OECD (1999). Consensus Document on the Biology of *Triticum aestivum* (Bread Wheat). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 9 ENV/JM/MONO(99)8. Environment Directorate. Organisation for Economic Co-operation and Development. Paris, Francia, 1999.
- Okada, T., Jayasinghe, J. E. A. R. M., Nansamba, M., Baes, M., Warner, P., Kouidri, A., Correia, D., Nguyen, V., Whitford, R., & Baumann, U. (2018). Unfertilized ovary pushes wheat flower open for cross-pollination. *Journal of Experimental Botany*, 69(3), 399–412.
- Rieben, S.; Kalinina, O.; Schmid, B.; Zeller, S. L. Gene flow in genetically modified wheat. *PLoS ONE*, 6(12): e29730. 2011.
- Sang T (2009). Genes and Mutations Underlying Domestication Transitions in Grasses. *Plant Physiol* 149: 63–70.
- Šimková H, Svensson J, Condamine P, Hřibová E, Suchánková P, Bhat P, Bartoš, Šafař J, Close J e Doležel J (2008). Coupling amplified DNA from flow-sorted chromosomes to high-density SNP mapping in barley.

BMC Genomics 9: 294-302.

Suchánková P, Kubaláková M, Kovářová P, Bartoš J, Žíhalíková J, Molnár-Láng M, Endo TR e Doležel J (2006). Dissection of the nuclear genome of barley by chromosome flow sorting. *Theor Appl Genet* 113: 651-659.

Thompson CJ, Rao Movva N, Tizard R, Cramer R, Davies JE, Lauwereys M, Botterman J (1987). Characterization of the herbicide-resistance gene bar from *Streptomyces hygroscopicus*. *EMBO J* 6(9): 2519-2523.

USDA (1996). APHIS Docket No. 96-019-2, Federal Register 61(160): 42581-42582.

Vra'na J, Kubalá'kova' M, Š'ímkova' H, Č'í'halí'kova' J, Lysa'k M e Doležel J (2000). Flow Sorting of Mitotic Chromosomes in Common Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetics* 156: 2033–2041.



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Augusto Vianna Barroso, Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança**, em 06/03/2023, às 17:25 (horário oficial de Brasília), com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.mcti.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador **10873794** e o código CRC **96579996**.