

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA
Parecer técnico 7248/2020

Processo SEI nº: 01250.010588/2020-82

Requerente: PIVOT Bio

Assunto: Consulta Prévia - Resolução Normativa 16 - Produto KV137-1034

Decisão: DEFERIDO

Reunião: 237a. Reunião Ordinária ocorrida em. 03/12/2020

Fundamentação Técnica:

Carta Consulta a respeito do enquadramento regulatório do produto KV137-1034 obtido por Técnica Inovadora de Melhoramento de Precisão (TIMP), nos termos da Lei no 11.105 de 24 de março de 2005 e da Resolução Normativa no 16, de 15 de janeiro de 2018; Trata-se de um inoculante para cultura do milho a base de *Klebsiella variicola*, visando a otimização do nitrogênio.

O microrganismo *Klebsiella variicola* do tipo selvagem é um microrganismo de solo de fixação livre de nitrogênio que tem o potencial de fornecer nitrogênio reduzido às raízes de culturas como o milho e classificada como nível de biossegurança 1 pela ATCC (American Type Culture Collection). Como a fixação microbiana de nitrogênio e a assimilação de amônia não estão relacionadas à patogenicidade e toxicidade microbiana, a requerentes espera que a Kv 137-1034 seja classificada da mesma forma que a cepa do tipo selvagem.

A fixação de nitrogênio por esse microrganismo é inibida por fontes exógenas de fertilizante sintético. Por esse motivo, culturas como o milho obtêm a maior parte de suas necessidades de nitrogênio a partir de fertilizantes inorgânicos, e pouco é proveniente dos microrganismos fixadores livres. A requerente desenvolveu a cepa Kv 137-1034 que permite fornecer às culturas, como o milho, nitrogênio reduzido mesmo na presença de fertilizantes nitrogenados a fim de suprir maior nível de nitrogênio à fase mais crítica do crescimento e do desenvolvimento do milho

No caso específico do Kv 137-1034, usou sua tecnologia para reduzir a atividade da glutamina sintetase microbiana (GlnA) e, assim, reduzir a

incorporação de nitrogênio fixo (amônia) de ser incorporada nos aminoácidos microbianos, tornando assim mais amônia microbiana disponível para a planta.

A requerente (Pivot Bio) espera que o uso do Kv 137-1034 na produção agrícola permita que os agricultores reduzam a quantidade de fertilizante nitrogenado normalmente aplicado para o crescimento ideal de culturas não leguminosas. A redução na quantidade de fertilizantes nitrogenado servirá para mitigar os efeitos adversos do escoamento de nitrogênio nos sistemas aquáticos e das emissões para a atmosfera, reduzindo assim o impacto ambiental negativo desses produtos.

Manipulações Genéticas

O gene alvo da tecnologia denominada pela empresa como "Remodel TM Pivot Bio" para produzir Kv 137-1034 é o gene *glnE*. O gene *glnE* codifica a enzima glutamina sintetase adenilil transferase que regula a atividade da enzima glutamina sintetase (*GlnA*) em resposta aos níveis intracelulares de glutamina.

A única diferença entre Kv 137-1034 e a cepa da bactéria *Klebsiella variicola* de tipo selvagem 137 é uma deleção. Portanto, tal como o gene nativo no tipo selvagem, o gene modificado na estirpe 137-1034 é estávelmente integrado no genoma microbiano e é herdado de forma estável nas populações de Kv 137-1034 propagadas vegetativamente. Portanto, a probabilidade de a construção do gene modificado em Kv 137-1034 se recombinar em outras cepas de *Klebsiella variicola* e / ou outras espécies microbianas é equivalente à probabilidade de recombinação da construção do gene na *Klebsiella variicola* de tipo selvagem.

Após a edição gênica em Kv 137-1034, todos os plasmídeos helper foram removidos das células bacterianas e confirmado que o DNA exógeno está ausente, antes da condução dos testes de campo, a fim de garantir que o microrganismo é não transgênico.

Os plasmídeos helper utilizados para produzir a cepa Kv 137-1034 podem ter a capacidade de conferir habilidades recombinantes à cepa hospedeira *Klebsiella variicola* 137, mas todos esses plasmídeos helpers são removidos do microrganismo final, confirmando novamente que o Kv 137-1034 não possui habilidades recombinantes diferentes comparadas à cepa de *Klebsiella variicola* de tipo selvagem 137

Em suma, a diferença entre Kv 137-1034 e Kv 137 do tipo selvagem é a exclusão do domínio AR no gene *glnE* na cepa 137-1034. Nem a estirpe selvagem 137 de *Klebsiella variicola* nem a estirpe 137-1034 contêm elementos genéticos associados a genes drives, portanto, a mudança fenotípica conferida em Kv 137-1034 não tem potencial para se disseminar por toda a população da estirpe 137 de *Klebsiella variicola*.

Aprovação comercial em outros países

O produto Kv 137-1034 não foi ainda comercializado. A empresa realizou ensaios de campo nos Estados Unidos e na Argentina, sendo o produto considerado não OGM em ambos os países.

Parecer

No âmbito das competências do art. 14, da Lei 11.105/05, e seu Decreto 5.591/05, e tendo por base na Resolução Normativa 16, a CTNBio concluiu que a cepa Kv 137-1034 atende aos requisitos apresentados no parágrafo 3o, do Artigo 1o da Resolução Normativa no 16, para seu enquadramento como Técnica Inovadora de Melhoramento de Precisão (TIMP) que podem originar um produto não considerado como um Organismo Geneticamente Modificado (OGM) e seus derivados, conforme definições da Lei no 11.105, de 24 de março de 2005, visto que o produto aqui apresentado implica nas características listadas:

I - Produto com ausência comprovada de ADN/ARN recombinante, obtido por técnica que emprega OGM como parental.

II - Produto obtido por técnica que introduz mutações sítio dirigidas, gerando ganho ou perda de função gênica, com a ausência comprovada de ADN/ARN recombinante no produto.

III - Produto obtido por técnica onde existe a expressão, temporária ou permanente, de moléculas de ADN/ARN recombinante, sem que haja a presença ou introgressão dessas moléculas no produto, visto que não existem moléculas de DNA/RNA recombinantes no produto Kv 137-1034

Desta forma foi considerado que a bactéria *Klebsiella variicola* KV 137-1034 obtida por meio da tecnologia de edição de genoma não é um OGM.

Embora o requerente afirme que a bactéria *Klebsiella variicola* seja classificada como nível de segurança biológica 1 (NB1) na coleção de

culturas da ATCC, ressalta-se que linhagens da mesma espécie são classificadas como NB2 na coleção de culturas alemão (DSMZ) e também na ATCC. Linhagens de bactérias do gênero *Klebsiella* estão classificadas pela Fundação André Toselo e pelo Ministério da Saúde como nível de biosegurança 2. Além disso, a literatura científica vem sugerindo que essa espécie causa infecções sérias em humanos, inclusive com surtos pediátricos. A bactéria tem sido detectada em rios e superfícies inertes e em vários tipos de ambiente, inclusive em plantas. Estirpes de *K. variicola* isoladas de plantas e de humanos (kingdom-crossing bacteria – KCB – bactérias que cruzam reinos taxonomicos) foram identificados em estudo científico (Scientific Reports (2019) 9:10610 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46998-9>).

Portanto, considera-se que a bactéria *Klebsiella variicola* exibe risco não negligenciável de transmissão do meio ambiente e de plantas para os seres humanos e animais e, portanto, cautela deve ser adotada em avaliações futuras de sua aplicação comercial.

DATA: 07 de dezembro de 2020.

Paulo Augusto V. Barroso
Presidente da CTNBio