

**MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA**  
**COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA**

Pedido de Vistas: Ofício CTNBio 276/09 – Brasília, 17/04/2009

Parecerista: Dr. Giancarlo Pasquali, Membro Titular da CTNBio

Assunto: Cartas-consulta com Solicitações de Dispensa de Análise e Emissão de Novo Parecer Técnico para Vegetais Oriundos de Cruzamentos Genéticos Clássicos (Convencionais) Envolvendo Eventos Transgênicos Aprovados pela CTNBio para Liberação Comercial – “Eventos Piramidados”

Interessados: Monsanto do Brasil Ltda. e Syngenta *Seeds* Ltda.

Eventos: Algodão MON531 x MON1445 (Monsanto);  
Milho MON810 x NK603 (Monsanto);  
Milho Bt11 x GA21 (Syngenta).

**PARECER**

Às cartas-consulta encaminhadas a CTNBio pelas empresas Monsanto do Brasil Ltda. (REG-732/08 e REG-733/08, de 14/10/2008) e Syngenta *Seeds* Ltda. (Carta 081205.doc, de 05/12/2008), apresentam-se solicitações de dispensa de análise e emissão de novo parecer técnico para vegetais oriundos de cruzamentos genéticos clássicos (convencionais) envolvendo eventos transgênicos previamente aprovados pela CTNBio para liberação comercial, os genericamente denominados “eventos piramidados” ou plantas contendo “*stacked genes*”. As progênes em questão incluem:

- i. Linhagens de algodão pertencentes à Monsanto derivadas do cruzamento dos eventos MON531 (Cry1Ac, resistente a insetos) e MON1445 (CP4-EPSPS, tolerante a glifosato), cujas liberações comerciais foram autorizadas pela CTNBio em 17/03/2005 e 17/09/2008, respectivamente;
- ii. Linhagens de milho pertencentes à Monsanto derivadas do cruzamento dos eventos MON810 (Cry1Ab, resistente a insetos) x NK603 (CP4-EPSPS, tolerante a glifosato), cujas liberações comerciais foram autorizadas pela CTNBio em 16/08/2007 e 17/09/2008, respectivamente; e
- iii. Linhagens de milho pertencentes à Syngenta derivadas do cruzamento dos eventos Milho Bt11 (Cry1Ab, resistente a insetos) x GA21 (mEPSPS, tolerante a glifosato), cujas liberações comerciais foram autorizadas pela CTNBio em 17/03/2005 e 17/09/2008, respectivamente;

Segundo meu entendimento, a questão central da piramidização de transgenes frente à biossegurança é: A combinação de genomas contendo distintos transgenes por cruzamentos genéticos clássicos, cujos eventos individuais tenham sido previamente aprovados para a liberação comercial, irá afetar funções moleculares, bioquímicas e fisiológicas dos vegetais, de tal forma que os torne de maior risco à saúde humana/animal e ao equilíbrio do meio ambiente?

Tal questão central não envolve apenas eventos de algodão e milho e a combinação dos genes de resistência a insetos e de tolerância a herbicidas, ora em apreciação. Segundo meu entender, a questão central é válida às progênes de quaisquer cruzamentos entre organismos transgênicos, ou entre organismos transgênicos e não transgênicos. A questão vale, também, para a combinação de

transgenes codificadores de quaisquer proteínas, estejam elas envolvidas em rotas bioquímico-fisiológicas distintas, como em rotas semelhantes. Neste último caso, o objetivo é, claramente, obter sinergismo da atividade gênica e a potencialização dos efeitos. Esta é, em suma, a finalidade de todos os programas de melhoramento genético clássico que, há mais de 50 anos, promovem o avanço da agricultura em produtividade e qualidade.

A partir da fundamentação teórica de bibliografia científica relevante, alguns exemplos dos quais estão indicados ao final deste parecer, bem como da prática de 21 anos de pesquisa laboratorial, produzindo e avaliando vegetais transgênicos, afirmo que a resposta à questão central é NÃO. A partir de vegetais transgênicos previamente aprovados para a liberação comercial pela CTNBio no Brasil, a combinação dos transgenes em um só genoma por cruzamento sexual NÃO irá produzir progênes com risco superior à saúde humana/animal ou ao equilíbrio do meio ambiente em frequência superior à combinação, em um só genoma, de outros genes (não transgenes) já presentes nestes mesmos vegetais. A autorização para liberação comercial pela CTNBio deve intrinsecamente levar em conta esta prática típica do melhoramento genético vegetal e, portanto, assegurar a segurança não só do vegetal caracterizado por um só evento, como de toda a progênie possível de ser gerada a partir do mesmo.

A segurança em afirmar que a piramidização de eventos autorizados não irá aumentar os riscos da progênie em relação às linhagens parentais está na seleção natural e antrópica realizada em cinco níveis:

- i. Transformação genética original: ao realizar a transgenia vegetal por métodos de biobalística ou infecção por agrobactérias, um grande número de células vegetais são transformadas geneticamente. Pelos procedimentos clássicos de indução da multiplicação celular, de seleção de células e tecidos transformados com antibióticos (incluindo herbicidas) e de regeneração de órgãos e indivíduos vegetais completos, todas as células cujas funções moleculares ou bioquímicas, e todos os tecidos e órgãos derivados cujas funções fisiológicas tenham sido prejudicadas pela integração transgênica, serão eliminados. Ademais, entre os vários vegetais transgênicos regenerados, aqueles que não apresentarem características típicas, incluindo o fenótipo recombinante, serão eliminados. O mesmo procedimento é realizado após a indução de mutações ou, mesmo, após cruzamentos clássicos entre quaisquer vegetais.
- ii. Progênes de autopolinizações e cruzamentos entre isolíneas: imediatamente após a seleção do(s) evento(s) transgênico(s) de interesse, é necessário obter linhagens estáveis quanto à expressão transgênica e quanto à expressão de todos os demais caracteres genéticos compatíveis à prática agrônômica. Bom número de autopolinizações e, eventualmente, retrocruzamentos são, assim, realizados. Caso efeitos genéticos adversos advindos da expressão do transgene ou em decorrência do local de sua inserção no genoma, bem como de possíveis efeitos pleiotrópicos ocorram sobre os mecanismos celulares de meiose, segregação cromossômica e sobre a multiplicação celular (mitose) para gerar embriões e indivíduos adultos, estes organismos sequer serão obtidos, ou serão eliminados, novamente, conforme os procedimentos padrões do melhoramento genético clássico. Trata-se, portanto, da seleção genética mendeliana de indivíduos de mesmo genótipo, exceto pela presença do transgene, que apresentam funções celulares compatíveis com a vida e com a perpetuação natural, ou assistida – no caso das práticas agrícolas – da linhagem.
- iii. Progênes de cruzamentos com cultivares não transgênicas: semelhante ao nível anterior, o cruzamento de eventos transgênicos com eventos não-transgênicos, porém com genótipos distintos, certificará a estabilidade da expressão transgênica e dos demais genes de interesse

agronômico. Todos os eventos transgênicos aprovados pela CTNBio para liberação comercial comprovarem estabilidade de expressão confirmada até este nível.

- iv. Avaliações de campo: a constatação de que os eventos transgênicos isolados, e suas diversas progênies, apresentaram comportamento eminentemente similar às isolíneas não transgênicas no meio ambiente, em numerosos e ao longo de anos de teste, exceto, é claro, pelos fenótipos recombinantes esperados.
- v. Bibliografia existente: de meu conhecimento, inexistem evidências bibliográficas ou estudos cientificamente embasados e endossados por pares que comprovem que a combinação de quaisquer transgenes em um só genoma oferece maior risco à saúde humana/animal e ao meio ambiente, considerando-se exclusivamente o organismo GM.

É fato comprovado que a combinação de diferentes construções transgênicas em uma mesma célula pode promover o silenciamento de um ou mais transgenes. Este fato é particularmente relevante quando sequências reguladoras (promotores e terminadores) são idênticos ou particularmente fortes. Sequências reguladoras fortes tendem a inviabilizar a função transcricional das células. Organismos transgênicos regenerados a partir de tais combinações ou transformações são derivados de células que, de alguma forma, reduziram a atividade promotora, tornando-a compatível com as demais funções celulares. É este, novamente, o primeiro nível de seleção acima mencionado. De qualquer forma, o silenciamento de transgenes, assim como o silenciamento de muitos genes endógenos cujas funções não são essenciais às células ou aos vegetais completos, não oferecerão maior risco à saúde humana/animal ou ao ambiente.

A recombinação genética entre sequências codificadoras semelhantes (homólogas) também é um evento possível. Caso ocorra entre transgenes, isto resultaria, em muito mais alta frequência, na inativação da função transgênica. A chance de tal recombinação gerar uma proteína tóxica (ou produto de atividade enzimática) é equivalente à chance de qualquer outra recombinação entre genes endógenos de sequências homólogas gerar uma proteína tóxica. O genoma, como muitos trabalhos comprovam, é plástico, fluídico. Não é surpreendente o fato de se encontrar novos arranjos genômicos após o sequenciamento de indivíduos da mesma espécie ou da mesma linhagem após algumas gerações. Isto é observável mesmo em linhagens de *Mycoplasma*, as mais simples bactérias, e seria surpreendente não observar-se tal fato em eucariotos superiores. Vegetais são organismos multicelulares. A eventual mutação do genoma de uma célula muito raramente compromete a vida de todo o vegetal. Para manter a uniformidade exigida às sementes da agricultura moderna, é imprescindível o controle de qualidade das mesmas, sejam elas convencionais ou transgênicas.

Finalmente, as principais críticas aos vegetais com eventos piramidados são as mesmas de quaisquer outros produtos da agricultura moderna, e não dizem respeito à biossegurança de eventos transgênicos ou à responsabilidade da CTNBio. Por exemplo, a propriedade de sementes; o emprego de defensivos agrícolas, em especial herbicidas; a monocultura em grandes áreas; o risco de contaminações por transgenes em culturas ditas “orgânicas”, como se as mesmas culturas não mantivessem fluxo de genes com todas as demais plantações não transgênicas, incluindo-se mutantes espontâneos tolerantes a herbicidas e resistentes a pragas e a doenças; entre outros. Estas críticas são pertinentes e devem constituir temas de discussão e deliberação do Conselho Nacional de Biossegurança, pois tratam de temas econômicos, sociais e, mesmo, culturais.

Pelas razões acima apresentadas, sou de parecer favorável à dispensa de análise e emissão de parecer a progênies derivadas do cruzamento de eventos vegetais transgênicos já aprovados pela CTNBio para a liberação comercial.

Brasília, 21 de Maio de 2009

Dr. Giancarlo Pasquali

Membro da CTNBio

### Referências Bibliográficas

Batista, R.; Saibo, N.; Lourenço, T. & Oliveira, M.M. (2008) Microarray analyses reveal that plant mutagenesis may induce more transcriptomic changes than transgene insertion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 105: 3640-3645.

Day, C.D.; Lee, E.; Kobayashi, J.; Holappa, L.D.; Albert, H. & Ow, D.W. (2000) Transgene integration into the same chromosome location can produce alleles that express at a predictable level, or alleles that are differentially silenced. *Genes & Development* 14: 2869-2880.

De Schrijvera, A.; Devosb, Y.; Van den Bulcke, M.; Cadotc, P.; De Loosed, M.; Reheulb, D. & Sneyers, M. (2007) Risk assessment of GM stacked events obtained from crosses between GM events. *Trends in Food Science & Technology* 18: 101-109.

Gelvin, S.B. (1998) The introduction and expression of transgenes in plants. *Current Opinion in Biotechnology* 9: 227-232.

Goodman, R.E.; Vieths, S.; Sampson, H.A.; Hill, D.; Ebisawa, M.; Taylor, S.L. & van Ree, R. (2008) Allergenicity assessment of genetically modified crops - what makes sense? *Nature Biotechnology* 26: 73-81.

Halpin, C. (2005) Gene stacking in transgenic plants – the challenge for 21<sup>st</sup> century plant biotechnology. *Plant Biotechnology Journal* 3: 141-155.

Taverniers, I.; Papazova, N.; Bertheau, Y.; De Loose, M. & Holst-Jensen, A. (2008) Gene stacking in transgenic plants: towards compliance between definitions, terminology, and detection within the EU regulatory framework. *Environmental Biosafety Research* 7: 197-218.

Vasconcelos, A.T.R.; Ferreira, H.B.; Bizarro, C.V. *et al.* (2005) Swine and poultry pathogens: the complete genome sequences of two strains of *Mycoplasma hyopneumoniae* and a strain of *Mycoplasma synoviae*. *Journal of Bacteriology* 187: 5568-5577.

Wolfenbarger, L.L. & Phifer, P.R. (2000) The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science* 290: 2088-2093.

Jun Zhang; Lin Cai; Jiaqin Cheng; Huizhu Mao; Xiaoping Fan; Zhaohong Meng; Ka Man Chan; Huijun Zhang; Jianfei Qi; Lianghui Ji & Yan Hong (2008) Transgene integration and organization in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genome. *Transgenic Research* 17: 293-306.