



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

PARECER TÉCNICO 5398/17

Processo:01200.004949/2014-07

Data de Protocolo: 03/11/2014

Próton: 58095/2014

Requerente: Monsanto do Brasil Ltda.

CQB: 03/96

CNPJ: 64.858.525/0001-45

Endereço: Av., Nações Unidas 12901

Presidente da CIBio: Geraldo Berger

Descrição do OGM: Soja geneticamente modificada Contendo o evento MON87751

Título da proposta: Relatório de Biossegurança Ambiental e Alimentar da soja MON87751

Extrato Prévio: 4328/14 - DOU [221 de 14/11/2014 Pag. 11](#)

Classificação: Classe de Risco 01

Decisão: DEFERIDO

Reunião: 200ª. Reunião Ordinária ocorrida em 09/03/2017

A CTNBio, após apreciação do pedido de parecer para liberação comercial de soja resistente a insetos denominada Soja MON 87751, concluiu pelo seu **DEFERIMENTO**, nos termos deste parecer técnico.

A requerente solicitou para CTNBio parecer sobre a biossegurança da soja geneticamente modificada, Soja MON 87751 com vistas ao livre uso no meio ambiente, registro, consumo humano ou animal, comércio ou uso industrial e qualquer outra atividade relacionada a este evento. Esta Soja expressa as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, oriundas de *Bacillus thuringiensis*. Este evento é resultado da transformação da soja convencional com o plasmídeo PV-GMIR13196, com os referidos genes e os elementos regulatórios para a expressão funcional das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2.

Para fundamentação do processo e conforme os ditames da RN05, a requerente apresentou dados sobre a completa caracterização do organismo parental, genes introduzidos, mapa genético, classificação de riscos, método de transformação, completa caracterização molecular e bioquímica das proteínas, avaliação de risco para saúde humana e animal e avaliação de risco para o meio ambiente.

A segurança alimentar humana e animal da presente soja foi analisada através de estudos de composição química e nutricional de forragem comparativamente ao cultivar convencional. Foram quantificados os teores de proteínas, fibras, minerais, aminoácidos, vitaminas, ácidos graxos, antinutrientes, isoflavonóides, etc. Os resultados comprovaram que a soja geneticamente modificada não difere da soja convencional em sua composição química e nutricional, exceto pela presença e expressão dos genes descritos, conforme esperado

A segurança ambiental do evento foi analisada em estudos realizados no Brasil e em outros países que demonstraram que a soja geneticamente modificada não difere da soja convencional em características agrônomicas, morfológicas, reprodutivas, assim como é equivalente em composição química e nutricional com exceção apenas às características de resistência a insetos. O fenótipo das plantas transformadas contendo os genes descritos é similar ao fenótipo da planta original no que se refere aos órgãos reprodutivos, à duração do período de desenvolvimento da planta, ao seu método de propagação. Além disso, a soja contendo o referido evento de transformação, assim como a soja convencional, não apresenta tendência a proliferar-se como planta daninha, e não é uma espécie invasiva em ecossistemas naturais.

Para o presente parecer foram analisados os relatórios apresentados pela requerente bem como literatura científica independente. Considerando as particularidades das diferentes regiões do país, estudos científicos realizados para avaliação de biossegurança, características agrônomicas e fenotípicas, como parte da avaliação de risco deste OGM, foram incluídas regiões representativas para a cultura da soja no território brasileiro. A CTNBio concluiu que a presente soja não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica à soja convencional. 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.

PARECER TÉCNICO

I – Identificação do OGM

Designação do OGM: Soja geneticamente modificada MON87751.

Requerente: Monsanto do Brasil Ltda.

Espécie: Glycine max

Característica Inserida: resistência a insetos

Método de introdução da característica: transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

Uso proposto: livre uso no meio ambiente, registro, consumo humano ou animal, comércio ou uso industrial e qualquer outra atividade relacionada a este evento

II. Informações Gerais

A empresa Monsanto do Brasil Ltda., detentora do CQB 03/96 requereu por meio de Ofício REG -849/14, datado de 30 de outubro de 2014, decisão técnica relativa à biossegurança da soja geneticamente modificada resistente a insetos MON 87751, para a liberação no meio ambiente, uso comercial e quaisquer outras atividades relacionadas a esse OGM e quaisquer progênies dele derivadas.

A requerente informou que o documento apresentado para análise intitulado “Relatório de biossegurança alimentar e ambiental da soja MON 87751” foi elaborado em conformidade com a Resolução Normativa n. 5 da CTNBio, datada de 12 de março de 2008.

A Declaração de veracidade das informações bem como o resumo executivo contendo uma síntese das informações contidas no relatório, foram apresentados.

III – Caracterização Molecular do evento:

A soja geneticamente modificada MON 87751 contém os genes *cryIA.105* e *cry2Ab2* oriundos de *Bacillus thuringiensis*(Bt) subsp. *Kurstakie* os elementos genéticos reguladores responsáveis pela expressão das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 as quais conferem resistência a insetos. As proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 expressas na soja MON 87751 possuem respectivamente mais de 99% e 98% de identidade de aminoácidos, com as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 expressas no milho MON 89034, já aprovado comercialmente no Brasil, como evento individual e também em combinação com outros eventos de transformação. Os eventos de transformação genética inseridos na soja MON 87751 conferem proteção contra os insetos lepidópteros pragas da soja: *Anticarsia gemmatalis*, *Chrysodeixis includens*, *Heliothis virescens*, *Crociosema aporema*, *Elasmopalpus lignosellus*, *Helicoverpa zea*, *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera cosmioides* e *Spodoptera eridania*. A combinação da expressão de duas proteínas inseticidas (Cry1A.105 e Cry2Ab2) em uma única planta proporcionará maior espectro de controle de insetos e um manejo mais eficiente da resistência de insetos, ocasionando maior durabilidade da resistência da planta. As proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 atuam de forma diferente, mais especificamente na maneira como elas se ligam aos receptores do intestino médio dos insetos alvo.

Para a transformação genética foram utilizados o tecido meristemático da variedade de soja convencional A3555 e o plasmídeo PV-GMIR 13196. Os genes e os elementos genéticos presentes no plasmídeo PV-GMIR13196 foram descritos. Um resumo dos genes e elementos genéticos do plasmídeo PV-GMIR13196 foram apresentados na Tabela V-2 páginas 38 a 40.

O plasmídeo PV-GMIR13196 contém aproximadamente 24,5Kb e dois T-DNAs, sendo que o primeiro T-DNA, nominado T-DNA I contém os cassetes de expressão dos genes *cryIA.105* e *cry2Ab2*. O segundo T-DNA, designado T-DNA II contém os cassetes de expressão dos genes marcadores de seleção *spIA* e *aad*. No processo de transformação ambos os T-DNAs foram inseridos no genoma da soja e posteriormente por meio de seleção nas progênes transformadas durante as gerações de autofecundação, foram selecionadas somente as plantas contendo o cassete de expressão dos genes *cryIA.105* e *cry2Ab2* (T-DNA I) sem o cassete de expressão dos genes marcadores de seleção, *spIA* e *aad*, contidos no T-DNA II. As espécies *Escherichia coli* e *Agrobacterium tumefaciens* foram utilizadas como hospedeiras do plasmídeo PV-GMIR13196.

O mapa genético do plasmídeo PV-GMIR13196 com os genes e elementos genéticos e suas posições utilizado na geração da soja MON 87751 é apresentado na Figura V-1 página 42 do relatório de biossegurança em análise.

A expressão do gene *cryIA.105* encontra-se sob regulação do promotor *RbcS4*, da sequência alvo do cloroplasto *RbcS4* e da região não traduzida *Pt1 3'*. Segundo descrito no relatório o promotor *RbcS4* é proveniente da família de genes *rbcSde A. thaliana*, a qual direciona a transcrição em células vegetais. A sequência alvo da família de genes *rbcSde A. thaliana* codifica a pequena subunidade *atsIA*, a qual direciona o transporte da proteína para o cloroplasto. A região não traduzida *Pt1 3'* é a região não traduzida 3' do gene *Pt1* de *Medicago truncatula* que codifica um transportador fosfato que direciona a poliadenilação do mRNA.

A expressão do gene *cry2Ab2* encontra-se sob regulação do promotor *Act2*, da sequência alvo *CTP2* e da região não traduzida *Mt3'*. O promotor *Act2* é proveniente do gene *act2* de *A. thaliana*, o qual direciona a transcrição em células vegetais. A sequência alvo *CTP2* é proveniente do gene *ShkGde A. thaliana* que codifica a região do peptídeo de trânsito da EPSPS, a qual direciona o transporte da proteína para o

cloroplasto. A região não traduzida *Mt3'* é proveniente do gene *Mtde Oryzasativa* que codifica a proteína metalotioneína-*like*, a qual direciona a poliadenilação do mRNA. Todas as descrições sob a expressão e regulação dos genes estão referenciadas por literatura científica.

O T-DNA II contém a sequência codificadora *splA* sob a regulação do promotor *Uspe* da região não traduzida *nos 3'*. O gene *splA* codifica a enzima sucrose fosforilase a qual interfere no metabolismo da sucrose, levando a um fenótipo reconhecível no tecido vegetativo onde está presente. Também está contido no TDNAII a sequência codificadora *aad* sob regulação do enhancer FMV, do promotor EF-1 α , da sequência alvo CTP2 e da região não traduzida T-E9. O gene *aad* codifica a enzima aminoglicosídeo modificada a qual confere resistência aos antibióticos espectonomicina e estreptomicina. As sequências codificadoras dos genes *aad* e *splA* bem como todo o sistema de regulação dos mesmos foram apresentados, sendo que os mesmos são provenientes de espécies que não causam agravos a saúde humana e animal.

O plasmídeo PV-GMIR13196 contém regiões de extremidades esquerda e direita derivadas de plasmídeos de *A. tumefaciens*. Por ser um plasmídeo 2TDNA, ele contém duas regiões de extremidade esquerda e duas de extremidade direita, onde um par de extremidades flanqueia o T-DNA I e o outro flanqueia o T-DNA II. As regiões das extremidades separam o T-DNA da região da matriz do plasmídeo, e estão envolvidas na transferência eficiente do T-DNA para o genoma da soja.

Os demais elementos genéticos fora dos T-DNAs foram apresentados e dentre eles encontra-se o gene marcador de seleção *nptII*, proveniente do transposon Tn5, o qual confere a resistência aos antibióticos neomicina e canamicina em *E. coli* e *Agrobacterium* durante a clonagem molecular. A ausência da matriz do plasmídeo e de outras sequências não intencionais na soja MON 87751 foi confirmada por sequenciamento e análises de bioinformática, apresentados na resposta da questão N. 9 da Parte V do relatório em análise.

1.1. Classificação botânica e origem: A soja cultivada, *Glycinemax*(L.) Merrill, é uma espécie diploide ($2n = 40$) pertencente à família Fabaceae, à subfamília Papilionoideae, à tribo Phaseoleae, ao gênero *Glycine* Willd e ao subgênero *Soja* (Moench) F.J. Herm. O gênero *Glycine* Willd tem origem na Ásia e Austrália, sendo dividido em dois subgêneros, *Glycinee Soja* (Moench) F.J. Herm. Na Tabela V-1, página 36 do relatório em análise é apresentada uma lista de espécies do gênero *Glycine* Willd, número de cromossomos $2n$, símbolo do genoma e distribuição geográfica.

1.2. classificação de risco do organismo geneticamente modificado: A soja resistente a insetos MON 87751 de acordo com a Resolução Normativa N°. 02 da CTNBio, datada de 27/11/2006, classifica-se como um OGM classe de risco 1 (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade), contém sequências de DNA/RNA de organismo doador e receptor que não causam agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente.

1.3 Métodos utilizados para a modificação genética: O método utilizado para a obtenção da soja geneticamente modificada MON 87751, foi a da transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, sendo as plantas transformadas obtidas sem a utilização de calos embriogênicos, provavelmente via organogênese meristemática. A variedade de soja convencional utilizada para a transformação genética foi A3555. Tecidos de meristema dessa variedade foram excisados de embriões de sementes germinadas e colocados em cocultivo com *Agrobacterium tumefaciens* cepa AB30 contendo a construção para transformação. Posteriormente os meristemas foram colocados em meio de cultivo para o desenvolvimento de brotos, seguido de cobertura líquida de meio de seleção contendo uma mistura de antibióticos (espectonomicina, carbenicilinadissódica, cefotaxima sódica e ticarcilina sódica/clavulanato de potássio) para inibir o crescimento de células vegetais não transformadas e o excesso de *Agrobacterium*. Em seguida os brotos foram transferidos para bandejas de micropropagação *in vitro* para o enraizamento. Plântulas enraizadas com características fenotípicas normais foram selecionadas e

transferidas para solo, para desenvolvimento e avaliações posteriores.

As plantas R0 obtidas por meio do processo de transformação genética foram autopolinizadas para produzir sementes R1 e as inserções independentes do T-DNA I e do T-DNA II foram segregadas. O fenótipo identificável *splAe* análises de reação em cadeia da polimerase (PCR) da sequência codificadora *aad* foram usados para selecionar e eliminar nas gerações posteriores de autofecundação, sementes ou plantas que contivessem o T-DNA II. As plantas homocigotas R1 contendo o T-DNA I foram selecionadas e suas progênes foram submetidas às análises moleculares, avaliações de eficácia no controle de insetos e demais avaliações fenotípicas. Todas as etapas para o desenvolvimento da soja MON 87751 são apresentadas na Figura V-2 página 47 do relatório de biossegurança em análise.

1.4 Caracterização molecular do inserto no organismo receptor: A caracterização do inserto de DNA na soja MON 87751 foi efetuada utilizando-se as técnicas de sequenciamento, PCR e bioinformática. A metodologia utilizada foi apresentada e os resultados demonstraram que a soja MON 87751 contém uma cópia do T-DNA I, o qual contém os cassetes de expressão dos genes *cryIA.105* e *cry2Ab2* e está estavelmente integrado em um único *locus*, sendo herdado de acordo com os princípios mendelianos nas gerações subsequentes de autofecundação. Esses estudos também demonstraram que o T-DNA II ou outras sequências não intencionais do plasmídeo não estão presentes na soja MON 87751.

1.5 O produto da expressão do gene inserido no organismo receptor: O cassete de expressão do gene *cryIA.105*, codifica uma proteína quimérica Cry1A.105 de 142 kDa que consiste de um único polipeptídeo de 1.265 aminoácidos. A sequência codificadora *cryIA.105*, é composta por sequências codificadoras das proteínas Cry1Ab, Cry1F e Cry1Ac oriundas de *B. thuringiensis*, e codifica a proteína Cry1A.105. O acúmulo da proteína Cry1A.105 é direcionado para os cloroplastos usando RbcS4, o peptídeo de trânsito da pequena subunidade da proteína *ats1A* de *A. thaliana*. O cassete de expressão do gene *cry2Ab2* codifica uma proteína Cry2Ab2 de 79 kDa que consiste de um único polipeptídeo de 713 aminoácidos. A sequência codificadora *cry2Ab2* é oriunda de *B. thuringiensis*, e codifica a proteína Cry2Ab2. O acúmulo da proteína Cry2Ab2 é direcionado para os cloroplastos usando CTP2, o peptídeo de trânsito da proteína EPSPS de *A. thaliana*.

A avaliação das proteínas expressas pelos genes exógenos na soja MON 87751 foi apresentada no relatório e inclui estudos referentes a: i) equivalência das proteínas produzidas em planta com as proteínas produzidas em *Escherichia coli* recombinante para uso nos estudos de biossegurança; ii) os níveis de expressão das proteínas determinados em tecidos de soja; e iii) um resumo da avaliação de inocuidade alimentar das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2. As proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 produzidas na soja MON 87751 e produzidas e purificadas em *Escherichia coli* foram utilizadas nesses estudos. A requerente informa que os resultados das análises efetuadas (sequenciamento N-terminal, mapa MALDI-TOF de massa trípica, Westernblot, peso molecular, glicosilação e atividade funcional) mostraram que as proteínas produzidas na soja MON 87751 e em *E. coli* são equivalentes. Com o resultado da equivalência da atividade funcional entre as duas proteínas, as avaliações para toxicidade aguda, organismos não alvos e espectro de atividade foram efetuadas com as proteínas produzidas e purificadas em *Escherichia coli*.

1.6. Expressão das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 na soja MON 87751: Os níveis de expressão das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 em vários tecidos da soja MON 87751 foram avaliados pelo teste de ELISA (*Enzima-LinkedImmunoSorbentAssay*) em amostras de tecidos coletados nos EUA e no Brasil. Nos EUA foram coletadas amostras em cinco locais na safra de 2012. Tecidos de folhas durante a safra (OSL1 a OSL4), forragem, raízes e grãos foram coletados de cada parcela em todos os locais. Amostra de flores para a extração do tecido antera/pólen foram coletados de uma parcela de um único local (estado de Illinois) na safra de 2012. Os níveis de expressão da proteína Cry1A.105 na soja MON 87751 ficaram no intervalo entre abaixo do limite de detecção (< LOD) a 1.600 µg/g de peso na base seca (pbs). A média de expressão da proteína Cry1A.105 em cada tipo de tecido foi mais alta em OSL4 a 790 µg/g pbs e menor

em raízes (< LOD). Em grãos, a média foi de 2,4 µg/g pbs, e em pólen/antera foi de 11 µg/g de peso na base úmida (pbu). Considerando todas as amostras coletadas no estudo realizado nos Estados Unidos, os resultados de expressão da proteína Cry2Ab2 na soja MON 87751 ficaram no intervalo entre 2,6 µg/g de peso na base seca (pbs) a 43 µg/g pbs. A média de expressão da proteína Cry2Ab2 em cada tipo de tecido foi mais alta em OSL3 a 32 µg/g pbs e menor em grãos, a 4,0 µg/g pbs. A média de expressão da Cry2Ab2 em pólen/antera foi de 7,7 µg/g de peso na base úmida (pbu).

No Brasil os níveis de expressão das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 foram quantificados em tecidos de soja MON 87751, produzidos em ensaios de campo na safra de 2013/2014, em seis locais diferentes: Cachoeira Dourada, MG (CAD); Sorriso, MT (SOR); Não-Me-Toque, RS (NMT); Rolândia, PR (ROL); Santa Cruz das Palmeiras, SP (SCP) e Luiz Eduardo Magalhães, BA (LEM). A média da quantificação dos níveis de proteína Cry1A.105, nos seis locais diferentes, foi de: 427 µg/g pbs em folha (OSL1), 340 µg/g pbs em folha (OSL2), 263 µg/g pbs em folha (OSL3), 316 µg/g pbs em folha (OSL4), 100 µg/g pbs em forragem e 3,7 µg/g pbs em grãos de soja MON 87751. A média da quantificação dos níveis de proteína Cry2Ab2, nos seis locais diferentes, foi de: 15 µg/g pbs em folha (OSL1), 18 µg/g pbs em folha (OSL2), 20 µg/g pbs em folha (OSL3), 13 µg/g pbs em folha (OSL4), 5,2 µg/g pbs em forragem e 1,6 µg/g pbs em grãos de soja MON 87751.

1.7 Técnicas de detecção gerais e específicas do OGM: As técnicas que podem ser utilizadas para a detecção da soja MON 87751 consistem em: i) bioensaios com as pragas alvo da cultura que mostrem a eficácia proporcionada pelas proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2; ii) técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) aplicada para a detecção e identificação do DNA inserido, utilizando iniciadores (primers) desenhados especificamente para esses eventos.

1.8 Padrão de herança genética dos genes inseridos: Estudos da herdabilidade e estabilidade do T-DNA I na soja MON 87751 foram efetuados baseando-se na segregação do caráter em várias gerações de autofecundação e empregando-se a análise de qui-quadrado (χ^2) para confirmar a segregação e a estabilidade do T-DNA I na soja MON 87751. As plantas R0 transformadas foram autopolinizadas obtendo-se a população R1, na qual foram identificadas 42 plantas contendo o T-DNA I, mas não o T-DNA II. Nessa população uma planta individual homocigota para os genes *cry1A.105* e *cry2Ab2* foi identificada por análises moleculares (*Real-Time TaqMan® PCR* e *Invader®*). A planta homocigota R1 de soja MON 87751 foi autopolinizada para gerar a população R2, a qual foi também autopolinizada para gerar a população R3. Em cada população, as plantas homocigotas fixadas foram testadas para o padrão esperado de segregação de 1:0 (presença: ausência) para o T-DNA I da soja MON 87751 usando as análises moleculares. Plantas homocigotas R3 de soja MON 87751 foram cruzadas com uma linhagem de soja de propriedade da Monsanto (MonSoy8329) que não continha as sequências codificadoras dos genes *cry1A.105* e *cry2Ab2*, obtendo-se as sementes F1 hemizigotas. Uma planta hemizigota F1 foi selecionada e então autopolinizada para produzir sementes F2. As plantas F2 resultantes foram testadas para presença do T-DNA I por ensaio de *Real-Time TaqMan® PCR*. A autopolinização de plantas hemizigotas e a determinação da zigosidade do T-DNA I da soja MON 87751 por análise *Real-Time TaqMan PCR* foi efetuado para plantas das gerações F2, F3 e F4. Subsequentemente, a avaliação em cada uma dessas gerações foi baseada na zigosidade, e estabeleceu-se que o T-DNA I da soja MON 87751 segregaria na razão 1:2:1 (homocigoto positivo:hemizigoto,positivo:homocigoto negativo) para a progênie derivada de uma planta hemizigota de acordo com os princípios de herança mendeliana. A análise de qui-quadrado (χ^2) foi usada para comparar as razões de segregação observadas com as razões esperadas, de acordo com os princípios mendelianos de herança. Os valores de qui-quadrado (χ^2) obtidos para as gerações F2, F3 e F4 indicaram que não houve diferença estatisticamente significativa entre a razão 1:2:1 de segregação observada e a esperada. Esses resultados suportam que o T-DNA da soja MON 87751 localiza-se em um único *locus* dentro do genoma da soja e é herdado de acordo com os princípios mendelianos de herança. Esses resultados corroboram com a caracterização molecular que indicam que a soja MON 87751 contém

uma única cópia dos cassetes de expressão dos genes *cry1A.105* e *cry2Ab2*, inseridos em um único *locus* do genoma da soja.

1.9 A descrição dos efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos, quando observados: A empresa relata que efeitos pleiotrópicos e epistáticos não foram observados nos ensaios de avaliação de caracteres morfológicos e agrônômicos realizados com a soja MON 87751 no Brasil na safra de 2013/2014. As características agrônômicas da soja MON 87751 não foram alteradas em relação as variedades comerciais, exceto pela expressão da característica de resistência a insetos, que foi o objetivo da introdução dos genes *cry1A.105* e *cry2Ab2* no genoma da soja.

1.10. Grau de estabilidade genotípica - Estabilidade da expressão de Cry1A.105 e Cry2Ab2 na soja MON 87751: Os estudos da presença das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 na soja MON 87751 em várias gerações de autofecundação, utilizando-se as análises de *Western blot* foram conduzidos com tecidos de folha coletados das gerações R3, R4, R5, R6 e R7 da soja MON 87751, e tecido de folha da soja controle convencional (A3555). A presença das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 foi demonstrada em cinco gerações de autofecundação da soja MON 87751. Um padrão de Cry1A.105 produzida em *E. coli* foi usado como referência para a identificação da proteína Cry1A.105 e um padrão de Cry2Ab2 produzida em *Bacillus thuringiensis* (Bt) foi usado como referência para a identificação da proteína Cry2Ab2. A presença das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 em tecidos de folha da soja MON 87751 foi determinada por comparação visual dos sinais produzidos em várias gerações de autofecundação e estava presente nas cinco gerações estudadas da soja MON 87751 e migrou com mobilidade indistinguível da proteína Cry1A.105 produzida em *E. coli* e da Cry2Ab2 produzida em Bt, analisadas por *Western blot*.

1.11. Estabilidade do inserto na soja MON 87751, em múltiplas gerações: Para demonstrar a estabilidade do T-DNA presente na soja MON 87751 em gerações sucessivas de autofecundação, a análise de sequenciamento de próxima geração e análise de sequências de junção (*Next Generation Sequencing Junction Sequence Analysis*- NGS/JSA), foi empregada utilizando DNA obtido de cinco gerações da soja MON 87751. Para avaliar a estabilidade, quatro gerações adicionais foram avaliadas pela análise NGS/JSA e comparadas com a geração R3 da soja MON 87751 completamente caracterizada. O controle convencional usado na análise de estabilidade em gerações foi a soja A3555, que possui *background* genético similar às outras gerações e representa a linhagem da transformação original. DNA genômico isolado de cada uma das gerações selecionadas da soja MON 87751 e da soja controle convencional foi usado na análise NGS/JSA. A consistência desses dados de JSC nas gerações testadas demonstra que esse inserto em um único *locus* foi mantido estavelmente durante todo o processo de melhoramento da soja MON 87751. Com base nessa análise de dados de sequência e bioinformática (NGS/JSA), concluiu-se que a soja MON 87751 contém uma única e estável inserção do T-DNA I.

1.12 A existência de interações com efeitos adversos, quando dois ou mais genes forem introduzidos no mesmo OGM, por técnicas de ADN recombinante e suas possíveis consequências: O potencial de interação entre as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 foi avaliado em bioensaios com insetos, sendo utilizadas duas espécies de pragas suscetíveis às proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, a broca europeia do milho (ECB, *Ostriniana nubilalis*) (Lepidoptera: Crambidae) e a lagarta da espiga (CEW, *Helicoverpa zea*) (Lepidoptera: Noctuidae). Segundo a empresa esse estudo forneceu evidência de que as proteínas não interagem nem de maneira antagonística, nem sinérgica, e que não há interações esperadas com relação aos insetos alvo e não alvo. Baseando-se nos resultados desses testes (dados não mostrados) a empresa realizou a avaliação de segurança dessas proteínas de maneira independente. A requerente relatada que houve consistência desses resultados com os resultados de um estudo anterior (Greenplate *et al.*, 2003) que demonstrou que não existe interação entre as proteínas Cry1Ac e Cry2Ab2). A empresa argumenta que a ausência de sinérgismo permite a aplicação do princípio de avaliação independente e que esse princípio presume que se cada substância na mistura atua de maneira independente, e essas substâncias estão abaixo dos seus níveis de não observação de efeitos adversos (NOAELs), sua toxicidade pode ser avaliada de maneira independente.

1.13. Modificações genéticas incluídas no OGM que podem alterar sua capacidade de reprodução, sobrevivência, disseminação ou transferência de genes inseridos para outros organismos.

Avaliações efetuadas no Brasil: Experimentos de campo para avaliar características agronômicas, interações ecológicas e abundância de artrópodes da soja MON 87751 em comparação à soja controle convencional de mesmo *background* genético e 16 variedades de soja convencional disponíveis no mercado foram conduzidos durante a safra de 2013/2014 em seis locais representativos do cultivo de soja no Brasil. As Estações Experimentais onde esse estudo foi conduzido foram: Cachoeira Dourada, MG (CAD); Sorriso, MT (SOR); Não-Me-Toque, RS (NMT); Rolândia, PR (ROL); Santa Cruz das Palmeiras, SP (SCP); Luiz Eduardo Magalhães, BA (LEM). A soja MON 87751 foi comparada à soja controle quanto a: estande inicial, vigor, estande final, dias para 50% de florescimento, acamamento, deiscência, altura de planta, rendimento, peso de 1.000 grãos e umidade. A diferença significativa obtida entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional pelo teste T ao nível de $P \leq 0,05$ foi para a variável número de dias para que 50% das plantas estarem florescidas, no município de Rolândia, onde as plantas MON87757 foram mais precoces que o controle convencional.

Morfologia e viabilidade do pólen: A proposta deste estudo foi obter informações sobre possíveis alterações na viabilidade e morfologia de pólen da soja MON 87751 em comparação à soja controle convencional. O experimento foi conduzido em casa de vegetação e laboratório (Sala de Sementes) na Estação Experimental da Monsanto em Rolândia, PR de junho a agosto de 2014. Os resultados de viabilidade e morfologia de grãos de pólen coletados nas parcelas com a soja MON 87751 foram comparados aos resultados obtidos nas parcelas com a soja controle convencional e ao intervalo de valores obtidos nas parcelas com as referências comerciais, em comparações individuais. Os dados coletados foram submetidos à análise estatística por meio do teste t para a comparação das médias da soja MON 87751 em relação à soja controle convencional, ao nível de significância de 5%. Na comparação de médias dos dados de porcentagem de viabilidade e diâmetro dos grãos de pólen, diferenças significativas não foram observadas entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional. Imagens em microscopia ótica representando as observações realizadas para análise da viabilidade dos grãos de pólen de soja, durante processo de coloração em corante de Alexander foram apresentadas nas Figuras V-27 e V28 páginas 113 e 114 respectivamente. Os resultados (dados mostrados) não apresentaram diferenças estatísticas significativas, indicando que a soja MON 87751 não difere da soja controle convencional quanto à viabilidade e à morfologia dos grãos de pólen.

Interações ecológicas: Estresse biótico: As avaliações de estresses bióticos, doenças ou artrópodes, foram realizadas em quatro tempos distintos durante a condução do estudo. As doenças avaliadas foram ferrugem, míldio, virose, fusarium, oídio, mancha parda, crestamento bacteriano, fumagina, macrophomina e mofo branco. Os dados obtidos nessas avaliações não foram apresentados, e a empresa informa que diferenças não foram observadas entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional nas vinte e cinco comparações realizadas para doenças. Quanto aos artrópodes foram avaliados mosca branca, vaquinhas, percevejos, broca das axilas, ácaros e tripses. Também não foram observadas diferenças entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional nas quarenta e seis comparações realizadas para a presença de artrópodes. Somente foram apresentados os dados obtidos para Coleóptero e Hemíptera, os dados referentes às avaliações dos demais artrópodes não foram apresentados. Os resultados da avaliação de danos ocasionados por artrópodes na soja MON 87751 em comparação à soja controle convencional e às referências comerciais em seis locais no Brasil na safra de 2013/2014, mostraram diferença estatística significativa entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional ($\alpha = 0,05$) usando ANOVA em Sorriso para dano foliar ocasionado por coleóptera, ocorrendo menor dano foliar na soja MON 87751.

Estresse abiótico: A empresa relata que não se observaram diferenças quanto a intensidade dos estresses abióticos entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional em 20 comparações realizadas (dados não mostrados). Os estresses avaliados foram calor, seca, vento, solo encharcado, solo compactado,

granizo e deficiência nutricional.

Interações simbióticas A proposta deste estudo foi obter informações sobre possíveis alterações na associação simbiótica da bactéria *Bradyrhizobium japonicum* com a soja MON 87751 em comparação à soja controle convencional. O experimento foi instalado em casa de vegetação na Estação Experimental da Monsanto em Santa Cruz das Palmeiras, SP, no período de junho a agosto de 2014. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com oito tratamentos e seis repetições. Os resultados de número e massa seca de nódulos por plantas nas parcelas com a soja MON 87751 foram comparados aos resultados nas parcelas com a soja controle convencional e ao intervalo de valores nas parcelas com as referências comerciais, isso em comparações individuais e combinadas, considerando os dois grupos de maturação (MG5 e MG8). Os dados coletados foram submetidos à análise estatística por meio do teste t para a comparação das médias da soja MON 87751 em relação à soja controle convencional, ao nível de significância de 5%. Na comparação de médias dos dados de número e de matéria seca de nódulos por planta, duas diferenças significativas foram observadas. O número de nódulos por planta e a massa seca de nódulos por planta da soja MON 87751 do grupo de maturação MG5 foram significativamente inferiores aos valores observados na soja controle convencional de MG5 (34 vs. 42 nódulos por planta e 0,06 vs. 0,09 g/planta, respectivamente). Para o grupo MG8 não foram observadas diferenças significativas para essas duas variáveis. Na análise combinada da soja MON 87751 de MG5 e da soja MON 87751 de MG8, também não foram observadas diferenças significativas entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional.

Vigor e germinação. Para esse estudo foram coletadas amostras nas estações experimentais de: Cachoeira Dourada, MG (CAD); Sorriso, MT (SOR); Não-Me-Toque, RS (NMT); Rolândia, PR (ROL); Santa Cruz das Palmeiras, SP (SCP); Luiz Eduardo Magalhães, BA (LEM). As amostras de grãos foram coletadas no estádio vegetativo R8 e enviadas ao Laboratório de Sementes da Monsanto do Brasil Ltda. em Uberlândia, MG. Os resultados de vigor e germinação dos grãos coletados nas parcelas com a soja MON 87751 foram comparados aos resultados das parcelas com a soja controle convencionais e ao intervalo de valores dos grãos coletados nas parcelas com as referências comerciais em comparações individuais por local e combinada dos seis locais. Na análise individual, a germinação da soja MON 87751 foi significativamente inferior ao controle em LEM (96,5 vs. 99,3%) e CAD (83,0 vs. 93,3%), embora os valores inserem-se dentro do intervalo das referências comerciais. Em SOR, a germinação da soja MON 87751 foi significativamente superior à soja controle convencional (97,3 vs. 92,0%) e apresentou-se fora do intervalo das referências comerciais. Na análise combinada de germinação (MG5 e MG8), não se detectou diferença significativa entre a média da soja MON 87751 e a média da soja controle convencional. Na análise individual de vigor, diferenças significativas também foram observadas em LEM (93,3 vs. 97,3%) e em CAD (80,8 vs. 90,8%), onde o vigor da soja MON 87751 foi significativamente inferior ao da soja controle convencional, porém dentro do intervalo das referências comerciais. Na análise combinada de vigor (MG5 e MG8), não se detectou diferença significativa entre a média da soja MON 87751 e a média da soja controle convencional.

Potencial como planta daninha e avaliação de plantas voluntárias: Este estudo teve por objetivo obter informações sobre o potencial de produção de plantas voluntárias a partir de grãos oriundos de parcelas cultivadas com a soja MON 87751 em comparação à soja controle convencional. As amostras de grãos foram coletadas no estádio fenológico R8 e foram semeadas em vasos contendo solo e mantidas por 90 dias sob condições controladas de casa de vegetação. As avaliações foram realizadas a cada 15 dias. Os dados obtidos de plantas emergidas das amostras oriundas da soja MON 87751 foram comparados aos dados obtidos da soja controle convencional e ao intervalo de valores das referências comerciais em análise individual por local. Na comparação das médias de porcentagem de plantas voluntárias germinadas ou emergidas entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional, não foram observadas diferenças significativas entre os materiais vegetais oriundos dos seis locais.

valiações efetuadas nos EUA: O levantamento de características agronômicas e de interações ecológicas

foi realizado em 17 locais nos Estados Unidos durante a safra de 2012 e foram avaliadas as seguintes variáveis: dormência, germinação e emergência de sementes, crescimento vegetativo, desenvolvimento reprodutivo, retenção e acamamento de sementes, interações planta-ambiente, e interações planta-simbionte.

c O protocolo padronizado de germinação da *Association of Official Seed Analysts* (AOSA, 2002) foi usado para avaliar o potencial de germinação das sementes. Avaliações comparativas das características de dormência e germinação de sementes foram conduzidas com a soja MON 87751, a soja A3555 utilizada como controle por possuir o mesmo *background* genético da soja MON 8775 e doze cultivares comerciais utilizadas como referências para fornecer um intervalo de valores comuns à cultura da soja. Os lotes de sementes da soja MON 87751, da soja controle convencional e das referências comerciais foram produzidos durante a safra de 2012 em Nebraska, Iowa e Illinois. A soja MON 87751 apresentou maior percentual de sementes germinadas normais quando comparada com a soja controle convencional (91,2% vs. 88,3%) à temperatura de 20/30 °C. A magnitude da diferença para a porcentagem de sementes germinadas normais para a soja MON 87751 foi pequena e o valor médio ficou dentro do intervalo das referências comerciais (62,6 a 99,3%). A soja MON 87751 apresentou menor porcentagem de sementes germinadas anormais quando comparada com a soja controle convencional (8,1% vs. 10,6%) à temperatura de 20/30 °C. A magnitude da diferença para a porcentagem de sementes germinadas anormais para a soja MON 87751 foi pequena e o valor médio também ficou dentro do intervalo das referências comerciais (0,5 a 37,4%). Com base nessas características e nos resultados do estudo evidenciando a falta de aumento da porcentagem de sementes duras, pode-se concluir que não houve mudanças indicativas de um aumento do potencial da soja MON 87751 como planta daninha quando comparada com a soja controle convencional.

Outras características fenotípicas: contagem de estande inicial, dias para 50% de florescimento, taxa de acamamento, taxa de deiscência das vagens, altura de plantas, estande final, peso de 100 sementes e rendimento foram avaliadas em 17 locais nos Estados Unidos durante a safra de 2012. Essas características foram avaliadas para analisar o potencial da soja MON 87751 como planta daninha quando comparada à soja controle convencional. A empresa apresentou os resultados e diferenças estatísticas significativas ($p \leq 0,05$) não foram detectadas na análise combinada dos locais para dados fenotípicos entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional para quaisquer das características avaliadas. Esses resultados suportam a conclusão de que a introdução da característica de resistência a insetos não alterou de forma significativa o potencial da soja MON 87751 como planta daninha quando comparada à soja controle convencional.

Morfologia e viabilidade do pólen: Para esses estudos o pólen foi coletado da soja MON 87751, soja controle convencional e quatro referências comerciais, cultivadas em condições agrônômicas similares. O delineamento experimental foi de blocos completos ao acaso, com quatro repetições e sete plantas por repetição. Viabilidade do pólen foi avaliada usando dez grãos de pólen viáveis representativos por repetição. Duas medidas de diâmetro perpendiculares entre si foram feitas para cada um dos dez grãos de pólen. A morfologia geral do pólen foi observada para a soja MON 87751, a soja controle convencional e as referências comerciais em cada uma das quatro repetições. Não foram detectadas diferenças estatísticas significativas entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional para a porcentagem da viabilidade do pólen ou do diâmetro do grão de pólen. Quanto à morfologia geral do pólen não foram observadas diferenças visuais entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional. Esses estudos evidenciam que a viabilidade e a morfologia do pólen da soja MON 87751 permaneceram inalteradas quando comparadas aos mesmos parâmetros avaliados na soja controle convencional.

Interações ecológicas: Nos experimentos de campo conduzidos nos Estados Unidos em 2012 para a avaliação de características agrônômicas e fenotípicas da soja MON 87751, também foram coletados dados da resposta da planta a estresses abióticos (seca, vento, deficiência de nutrientes etc.), danos relacionados a doenças, danos relacionados a artrópodes e abundância de artrópodes. A empresa não

apresentou os dados, informando que os resultados de avaliações de campo mostraram que a característica de resistência a insetos não alterou de forma inesperada as interações ecológicas avaliadas para a soja MON 87751, quando comparada à soja controle convencional.

Interações simbióticas: O objetivo do estudo foi avaliar se a característica de resistência a insetos na soja MON 87751 alterou a interação simbiótica com a bactéria *Bradyrhizobium japonicum*, quando comparada à soja controle convencional e às referências comerciais. A soja MON 87751, a soja controle convencional e seis referências comerciais foram semeadas em vasos contendo meio de cultura deficiente em nitrogênio e mantidos em casas de vegetação. As sementes foram inoculadas com uma solução de *B. japonica* e, seis semanas após a emergência, as plantas foram cortadas na altura da superfície do meio de cultura, sendo que brotos, raízes e nódulos foram removidos dos vasos. Os nódulos foram separados das raízes antes da contagem e da determinação do peso seco. De acordo com os resultados apresentados pela empresa nenhuma das características avaliadas incluindo número de nódulos, peso seco de nódulos, raiz e brotos, porcentagem de nitrogênio total em brotos e nitrogênio total (gramas) em brotos apresentou diferenças estatisticamente significativas entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional.

2. AVALIAÇÃO DE RISCO A SAUDE HUMANA E ANIMAL

2.1 histórico de uso na alimentação, no Brasil e em outros países do organismo parental ou doador:

A empresa detalhou o uso da soja na alimentação humana e animal tanto na forma *in natura* como industrializada. Posteriormente descreveu os principais processos utilizados para obtenção do óleo, proteína, isoflavona, lecitina, xarope, farinha, margarina, gorduras, dentre outros. Aspectos nutricionais e antinutricionais também foram abordados bem como a situação da cultura no Brasil e no mundo.

2.2 Possíveis efeitos na cadeia alimentar humana e animal pela ingestão de OGM e seus derivados:

Neste item a empresa relata que efeitos adversos na cadeia alimentar humana e animal pela ingestão da soja MON 87751 e seus derivados não são esperados baseando-se nos resultados da avaliação da segurança alimentar deste evento de transformação e das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 nele expressas. Os genes responsáveis pela expressão dessas proteínas são oriundos de *Bacillusthuringiensis*, sendo essa espécie utilizada comercialmente há muitos anos para produzir formulações com ação inseticida. Também ressalta que as proteínas Cry (como a Cry1Ac, Cry1Ab, Cry1F, Cry1A.105 ou Cry2Ab2) têm sido expressas em plantas geneticamente modificadas cultivadas há mais de uma década em vários países, sem qualquer relato de alergia ou toxicidade causadas por elas. Os riscos para a saúde humana e animal pela ingestão de alimentos ou ração contendo as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 foram avaliados. Os riscos são quantificados como uma margem de exposição (MOE), que é definida como nível de efeito não observado (NOEL) de um estudo de toxicidade oral aguda com camundongos para estimar a ingestão da dieta da respectiva proteína Cry. Nas páginas 145 a 146 foram reportados resultados de testes de toxicidade aguda “Esses estudos demonstraram que as duas proteínas não apresentam toxicidade aguda e não causam nenhum efeito adverso, mesmo nas doses mais altas do teste, que foram 2.072 e 2.198 mg/kg de peso corporal para as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, respectivamente. A avaliação de segurança na dieta mostrou que as MOEs para a população americana em geral foram maiores ou iguais a $3,7 \times 10^6$ e $2,3 \times 10^6$ para as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, respectivamente. Para crianças na idade de 3-5 anos, um grupo etário onde o consumo de soja é considerado mais alto, as MOEs foram maiores ou iguais a $2,9 \times 10^5$ e $1,8 \times 10^5$ para as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, respectivamente. Essas amplas MOEs indicam que não há risco significativo à saúde humana pela exposição às proteínas Cry1A.105 ou Cry2Ab2 de soja MON87751 na dieta.”. Outro ponto a ser considerado é que as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 foram digeridas em menos de 33 segundos em fluidos gástricos simulados. Proteínas que são rapidamente digeridas no sistema gastrointestinal de mamíferos apresentam baixa probabilidade de serem alergênicas. Estudos utilizando ferramentas de bioinformática comprovaram que essas proteínas não compartilham de nenhuma similaridade de sequência de aminoácidos com alérgenos conhecidos ou

proteínas tóxicas que causem efeitos adversos em mamíferos.

2.3 Diferenças de composição química e nutricional entre o alimento oriundo do vegetal geneticamente modificado e do vegetal não modificado: Experimentos conduzidos nos EUA: Para elucidar essas questões foi efetuada análise de composição em amostras de experimentos de campo conduzidos nos Estados Unidos na safra de 2012, nas quais os níveis dos nutrientes, antinutrientes e metabólitos secundários nos tecidos de grãos e forragem da soja MON 87751 foram comparados aos níveis desses mesmos componentes encontrados na soja controle convencionais com um background genético similar e em 19 variedades de soja convencional.

A avaliação para a qualidade composicional da soja MON 87751 seguiu o protocolo definido pelo documento consenso da OECD (OECD 2012). As amostras de grãos foram avaliadas para componentes bromatológicos, carboidratos, fibras, aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e minerais. Os antinutrientes avaliados em grãos incluíram lectina, inibidores de tripsina, ácido fítico, rafinose e estaquiase. As isoflavonas também foram avaliadas. As amostras de forragem foram avaliadas para composição centesimal (bromatologia), carboidratos e fibras. Ao todo, 66 componentes foram analisados e, desses, 14 ácidos graxos tiveram mais de 50% das observações abaixo do limite de quantificação do ensaio e em razão disso, esses componentes foram excluídos das análises estatísticas. De todos os componentes avaliados, oito deles (proteína, glicina, prolina, fósforo, vitamina E e rafinose em grãos, e gordura total e FDN em forragem) mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional. Para esses componentes, a diferença média nos valores dos componentes entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional foi menor que o valor do intervalo da soja controle convencional. Adicionalmente, a diferença média nos valores dos componentes entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional foi menor que o intervalo de valores das referências comerciais de soja. Todos os resultados das avaliações para composição de proteína e aminoácidos, composição de gordura total e ácidos graxos, composição de carboidratos por cálculo, fibras, cinzas, minerais, vitaminas, antinutrientes e isoflavonas e composição centesimal e fibras em forragem efetuadas em amostras coletadas nos EUA foram apresentados nas Tabelas VI-5 a VI-8, páginas 150 a 156 do relatório em análise.

Experimentos conduzidos no Brasil: A composição centesimal de grãos e forragem da soja MON 87751, produzidos em experimentos de campo no Brasil na safra de 2013/2014, em seis locais representativos das regiões de cultivo da soja no país: Cachoeira Dourada, MG (CAD); Luiz Eduardo Magalhães, BA (LEM); Não-Me-Toque, RS (NMT); Rolândia, PR (ROL); Santa Cruz das Palmeiras, SP (SCP); e Sorriso, MT (SOR), foi determinada e comparada à soja controle convencional de *background* genético similar e treze referências comerciais. As amostras de forragem foram coletadas no estádio fenológico R6, e as amostras de grãos foram coletadas na fase de maturidade fisiológica. As amostras foram analisadas quanto aos componentes centesimais (cinzas, gorduras, proteínas) e carboidratos, estes últimos calculados por subtração (carboidratos calculados). Os dados apresentados mostraram que as diferenças nos componentes da composição centesimal foram menores do que o intervalo de valores medidos na soja controle convencional e nas referências comerciais, e também no banco de dados do ILSI-CCDB, e não foram significativas em termos da composição no que diz respeito à segurança de alimentos para humanos e animais. Os resultados das avaliações em amostras de forragens e grãos coletadas no Brasil foram apresentados nas Tabelas Tabela VI-10 a VI-13 do presente relatório em análise.

2.4 Alterações relativas ao desempenho do animal quando alimentado com organismos geneticamente modificados ou qualquer de suas partes, *in natura* ou após processamento.

Estudo com frangos de corte: Um estudo de alimentação com duração de 42 dias foi realizado utilizando 800 frangos de corte jovens para comparar o valor nutricional das dietas contendo ração de soja MON 87751, ração de soja controle convencional (A3555 com *background* genético similar à soja MON

87751 e seis dietas adicionais contendo ração de soja produzida a partir de variedades comerciais americanas. A empresa não informou a instituição e local onde os mesmos foram realizados. As mortalidades durante os primeiros sete dias do estudo não foram diferentes entre aves alimentadas com a dieta contendo a soja MON 87751 ou a soja controle convencionais A3555 ($p = 1,0000$). As mortalidades durante o período entre os Dias 7 e 42 não foram diferentes entre aves alimentadas com a dieta contendo a soja MON 87751 ou a soja controle convencional A3555 ($p = 1,0000$). As aves sobreviventes em todos os grupos estavam com boa saúde, com base em observações das gaiolas duas vezes ao dia. As medidas de desempenho, incluindo peso de ave viva no Dia 42 (kg/ave), total de ingestão de alimento (kg/ave) e razão alimento: ganho não ajustada e ajustada (kg/kg) para aves alimentadas com dietas contendo ração de soja produzida da soja MON 87751 não foram diferentes ($p \geq 0,05$) das medidas encontradas para as aves alimentadas com a ração de soja controle convencional. As medidas de rendimento de carcaça não foram diferentes ($p \geq 0,05$) para aves alimentadas com dieta contendo a soja MON 87751 e aquelas alimentadas com dieta contendo a soja controle convencional, exceto para peso de carne de peito (% de peso da carcaça refrigerada), peso de coxa (%) e peso de carcaça refrigerada. Não houve diferença ($p \geq 0,05$) na média de peso de carcaça refrigerada (kg) entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional, e nem qualquer diferença no peso da gordura abdominal (kg/ave), de peito (kg/ave), de coxa (kg/ave), de sobrecoxa (kg/ave) e de asa (kg/ave). Uma interação dieta \times gênero foi detectada ($p < 0,15$) para a média de peso de peito (kg/ave). Entretanto, dentro da análise de gênero, diferença ($p \geq 0,05$) não foi detectada na média de peso de peito de aves teste e controle para a combinação de sexos no geral e fêmeas. Diante dos resultados discutidos (dados não mostrados) a empresa conclui que “diferenças biologicamente relevantes não foram observadas para desempenho, rendimento de carcaça ou mortalidade de aves entre aquelas alimentadas com dieta contendo ração de soja MON 87751 e aquelas alimentadas com ração de soja controle convencional” e que “As dietas contendo a soja MON 87751 foram tão nutritivas quanto aquelas contendo a soja controle convencional ou as referências comerciais convencionais com relação à sua habilidade de promover o rápido crescimento” páginas 168 e 169 do relatório em análise.

2.5 A estabilidade à digestão e ao processamento industrial da proteína especificada pelo transgene com base nas propriedades físicoquímicas: A digestibilidade da proteína Cry1A.105e Cry2Ab2 foi avaliada em fluido gástrico simulado - SGF e fluido intestinal simulado – SIF. Os resultados desse estudo mostraram que mais de 98,7% da proteína Cry1A.105 inteira foram digeridos em 30 segundos de incubação em SGF quando analisada em SDS-PAGE corado com *Brilliant Blue G Colloidale* pelo menos 98,4% da proteína Cry1A.105 inteira foram digeridos dentro de 30 segundos quando analisada por *Western blot* usando um anticorpo policlonal de cabra anti-Cry1A.105. Esses resultados foram apresentados nas Figuras VI-3 e VI-4 páginas 173 e 174. O local onde esses testes foram realizados não foi informado. Durante a incubação em SIF pelo menos 98,4% da proteína Cry1A.105 inteira foram digeridos dentro de 5 minutos, quando analisada por *Western blot*. Como esperado, o núcleo resistente a tripsina (aproximadamente 55 kDa) foi observado durante toda a digestão em apenas SIF. Digestão rápida da proteína Cry1A.105 inteira em SGF e SIF, e rápida digestão sequencial do fragmento transientemente estável de aproximadamente 5 kDa indicam que é altamente improvável que a proteína Cry1A.105 e seu fragmento causem preocupações de segurança à saúde de humanos e animais.

Os resultados desse estudo também mostraram que a proteína Cry2Ab2 é rapidamente digerida quando incubada em SGF. Pelo menos 99% da proteína Cry2Ab2 inteira (aproximadamente 60 kDa) foram digeridos em 30 segundos quando analisada em SDS-PAGE corado com *Brilliant Blue G Colloidal* e pelo menos 98% da proteína Cry2Ab2 inteira foram digeridos dentro de 30 segundos em SGF quando analisada por *Western blot*, sem a visualização de fragmentos proteolíticos. Pelo menos 96% da proteína Cry2Ab2 inteira foram digeridos dentro de 5 minutos durante a incubação em SIF, quando analisada por *Western blot*. Resultados desses estudos foram mostrados nas Figuras VI-7 a VI-9 das páginas 181 a 184.

Estabilidade ao calor das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2

O tratamento da proteína Cry1A.105 por 15 e 30 minutos a 75 °C ou mais, resultou em $\geq 97\%$ de perda da atividade funcional detectável. O tratamento da proteína Cry2Ab2 por 15 e 30 minutos a 55 °C ou mais, resultou em $\geq 96,4\%$ de perda da atividade funcional detectável. Ambas proteínas perdem a atividade funcional em temperaturas elevadas.

2.6 Os possíveis efeitos deletérios do OGM em animais prenhes e seu potencial teratogênico.

A empresa afirma que proteínas comuns da dieta não têm sido associadas a efeitos teratogênicos, mutagênicos ou carcinogênicos em animais-modelo como ratos e que não se espera que tais efeitos estejam baseados na estrutura/função dessas proteínas. A possibilidade de que essas proteínas exógenas sejam absorvidas de maneira intacta em quantidades suficientes e entrem na circulação fetal é mínima, uma vez que elas são digeridas no trato gastrointestinal.

2.7 As conclusões de análises imunológicas e histológicas de tecidos relevantes, especialmente do trato digestivo: Considerando que essas proteínas têm uma biodisponibilidade oral praticamente desprezível, não sendo absorvidas intactas no trato gastrointestinal, esses estudos não foram realizados com a soja MON67751. Estudos de toxicidade oral aguda mostram que o NOAEL (nível de efeito adverso não observado) das proteínas Cry estudadas varia entre 576 a 5.220 mg/kg de peso (Betzet *al.*, 2000; U.S. EPA, 2001), quantidades essas quase que improvável que os humanos e os animais criados para consumo humano estarão expostos ao consumir alimentos derivados de plantas geneticamente modificadas. Estudos de 90 dias realizados para avaliar a toxicidade subcrônica de formulações microbianas de *Bacillus thuringiensis* mostraram ainda NOAELs de 4.000 mg/kg (produto: Teknar) e 8.400 mg/kg (produto: Dipel) (Hammond e Cockburn, 2008). Esses fatos evidenciam o baixo risco para a saúde humana e animal da soja MON 87751.

2.8 Capacidade do OGM de produzir toxinas ou metabólitos que causem efeitos adversos ao consumidor, animal ou humano, relatando as evidências experimentais:

Os resultados das análises de composição apresentados neste relatório demonstraram a equivalência de nutrientes, antinutrientes e outros componentes de grãos e forragem da soja MON 87751 com a soja controle convencional e com referências comerciais de soja. Os dados de composição centesimal com amostras de grãos e forragem coletadas no Brasil na safra 2013/2014 e nos EUA na safra de 2012 também mostraram a equivalência nutricional entre a soja MON 87751, a soja controle convencional e as referências comerciais de soja.

2.9 Avaliações toxicológicas e farmacológicas realizadas em animais experimentais, descrevendo os resultados:

Avaliação do potencial de toxicidade das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2: Esses estudos foram efetuados analisando a similaridade estrutural das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 produzidas na soja MON 87751 com toxinas conhecidas. Análise de bioinformática da sequência de aminoácidos das proteínas codificadas pelos transgenes foi efetuada visando assegurar que as proteínas não compartilham de homologia com toxinas ou proteínas antinutricionais conhecidas, associadas com efeitos adversos à saúde. As similaridades estruturais potenciais compartilhadas entre as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 com sequências em bancos de dados de proteínas foram avaliadas usando a ferramenta de alinhamento de sequência FASTA. Os resultados das análises de bioinformática demonstraram que não existe similaridade estrutural relevante entre as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 e qualquer sequência no banco de dados TOX_2013.

Histórico de uso seguro das proteínas Cry1Ac e Cry2Ab2: A proteína Cry1A.105 é expressa no milho MON 89034, e também em produtos combinados contendo este evento aprovados em vários países, inclusive no Brasil. A proteína Cry1A.105 da soja MON 87751 possui 99% de identidade de aminoácidos

com a proteína Cry1A.105 do milho MON 89034, e 100% de homologia com o núcleo resistente a proteases desta proteína no milho MON 89034, núcleo este responsável pela especificidade ao organismo alvo e eficácia. A proteína Cry2Ab2 é também expressa no milho MON 89034 e nos produtos combinados contendo este evento e têm sido comercializados em vários países inclusive o Brasil. A proteína Cry2Ab2 produzida na soja MON 87751 possui 97% de identidade de aminoácidos com a proteína Cry2Ab2 produzida no milho MON 89034 e 100% de homologia com o núcleo resistente a proteases da proteína produzida no milho MON 89034, núcleo este responsável pela especificidade ao organismo alvo e eficácia.

Digestibilidade e estabilidade ao calor das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2:As proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 são digeridas em fluido gástrico simulado (SGF) e em fluido intestinal simulado (SIF). Quanto a estabilidade ao calor as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, quando aquecidas a 75 °C ou acima, mostraram uma perda maior que 96% da atividade funcional detectável, comportando-se conforme a tendência prevista de perda de atividade funcional em temperaturas elevadas.

Estudo de toxicidade oral aguda com as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2.Estudos de toxicidade aguda, usando versões das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 expressas no milho MON 89034, foram apresentados para confirmar a segurança das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2. Esses estudos toxicológicos resultaram em NOAELs (níveis de efeitos adversos não observados) muito altos para cada proteína.

2.10 Similaridade dos produtos de expressão do OGM com alérgenos conhecidos: As proteínas Cry expressas em plantas foram avaliadas se são estrutural ou funcionalmente relacionadas com proteínas conhecidas por causar efeitos adversos no trato gastrointestinal e na função imune, assim como proteínas conhecidas como tóxicas ou farmacologicamente ativas em mamíferos. Nessas avaliações não foram identificadas homologias com proteínas alergênicas, toxinas ou farmacologicamente ativas.

Um conjunto de diretrizes para avaliação do potencial alergênico de novas proteínas foi publicado pela *Codex Alimentarius Commission* (Codex, 2003). As informações necessárias, do ponto de vista de alergenicidade, para a avaliação da segurança de alimentos derivados de plantas geneticamente modificadas, segundo esse relatório, são: 1- a fonte do gene (se proveniente de organismo alergênico ou não); 2- a similaridade da proteína de interesse com alérgenos conhecidos; 3- a estabilidade da proteína de interesse à digestão *in vitro* (se é ou não estável em fluidos simulados - gástrico e intestinal); 4- o nível de expressão da proteína de interesse; 5- os estudos de ligação de IgE, se apropriados (esses estudos são realizados apenas se a sequência do gene de interesse é proveniente de um organismo alergênico ou se a sequência da proteína expressa tiver homologia significativa com uma proteína alergênica, o que não é o caso dos genes *cry*).

Em virtude da soja ser um alimento que contém antinutrientes naturais e que provocam alergias em alguns indivíduos, a empresa realizou estudos para avaliar se há diferença na ligação da soja MON 87751 à IgE humana, comparada às sojas controles e às referências comerciais para complementar os estudos de segurança realizados com estes produtos. Estudo IgE foi realizado para comparar a alergenicidade endógena da soja MON 87751 à soja controle convencional A3555 à referências comerciais de soja. A alergenicidade endógena foi medida usando soros de indivíduos clinicamente diagnosticados como alérgicos a soja, os quais contém anticorpos IgE específicos para soja. Ensaio ELISA validados foram utilizados nesse estudo para determinar os níveis dos alérgenos endógenos de soja na soja MON 87751, na soja controle convencional A3555 e em referências comerciais de soja. Os resultados desse estudo mostram que a ligação de IgE específica de soja à alérgenos endógenos da soja MON 87751 e da soja controle convencional é comparável à ligação de IgE às referências comerciais de soja. Esses resultados foram apresentados na Figura VI-14, página 214.

3. AVALIAÇÃO DE RISCO AO MEIO AMBIENTE

3.1 Área de ocorrência natural do organismo parental do OGM: No Brasil a soja *GlycineMax* é considerada uma espécie exótica, não sendo identificada nenhuma espécie nativa, silvestre ou feral que possa cruzar espontaneamente com ela. Não há também nenhum centro de diversidade genética da soja no Brasil, toda a variabilidade genética da espécie foi introduzida dos centros de origem ou de diversidade genética e está armazenada em bancos de germoplasma das instituições públicas e privadas. Segundo Hymowitz *et al.*, 1992 não existem evidências que *G. soja* escapou ou se dispersou de áreas experimentais, tornando-se uma invasora.

3.2 História de cultivo e de uso do organismo parental em termos de segurança para o meio ambiente: A soja foi domesticada por volta de 1027 a 1500 AC sendo inicialmente cultivada no Nordeste da China. No Brasil a primeira introdução da soja foi em 1882 na Bahia mas a cultura não teve sucesso. Dez anos mais tarde, a soja foi introduzida no país no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) sendo que o cultivo comercial iniciou-se no Rio Grande do Sul, em 1914, e no Paraná em 1954 (Miyasaka e Medina, 1977). O Brasil em 1958 contribuía com apenas 0,5% da produção mundial, contribuindo atualmente com 30%, sendo essa leguminosa cultivada em quase todo o território nacional.

A soja é uma planta autógama, cleistogâmica, com baixos índices de cruzamento natural (de < 0,5 a 1%), apresentando-se como uma espécie altamente endogâmica. As frequências de polinização cruzada podem variar de acordo com as condições do ambiente, genótipos envolvidos e atividade de insetos, sendo que a maioria dos cruzamentos ocorre entre plantas espacialmente mais próximas, localizadas no entorno da fonte de pólen. Estudos sobre a polinização cruzada em soja conduzidos sob condições naturais ou com polinizadores suplementares (normalmente abelhas) foram apresentados na Tabela VII-1, página 221.

Cruzamentos da soja MON 87751 com espécies selvagens anuais dentro do Subgênero: O subgênero *Soja* inclui a soja cultivada *G. max* a espécie selvagem anual *G. soja* a qual é encontrada na China, em Taiwan, no Japão, na Coreia e na Rússia (Hymowitz, 2004; Lu, 2004). Híbridos F1 de *G. max* *G. soja* carregam genomas similares e são férteis. Híbridos férteis interespecíficos formados por cruzamentos artificiais entre *G. max* *G. soja* e entre *G. max* *G. gracilis* têm sido facilmente obtidos. Embora a hibridização entre *G. max* membros do Subgênero *Soja* possa ocorrer, *G. soja* não é encontrada nas Américas do Sul e Norte, e não se espera que ocorra transferência de genes da soja MON87751 para essas espécies. A transferência do transgene para espécies nativas do subgênero *Soja* pode ocorrer, onde estas espécies selvagens estão naturalmente presentes.

Cruzamentos da soja MON 87751 com espécies perenes selvagens do Subgênero Glycine: As espécies perenes selvagens do subgênero *Glycine* ocorrem na Austrália, Ilhas do Pacífico Oeste, Central e Sul, China, Papua Nova Guiné, Filipinas e Taiwan. Portanto hibridação inter-subgenérica natural podem ocorrer, mas somente nestas áreas onde estas espécies são endêmicas (Hymowitz *et al.*, 1992; Hymowitz e Singh, 1992). Cruzamento interespecífico natural entre *G. max* as espécies perenes selvagens de *Glycine* é extremamente baixo, uma vez que elas são espécies com genomas distintos e o aborto de vagens é comum (Hymowitz, 2004; Lu, 2004). Excepcionalmente, sementes imaturas de cruzamentos obtidos *in vitro*, podem germinar, mas os híbridos F1 resultantes apresentam crescimento lento, aparência frágil e são completamente estéreis devido ao pareamento irregular dos cromossomos.

Vantagem seletiva do transgene: Não se espera que a característica conferida pela introdução dos genes *cryIA.105* e *cry2Ab2* proporcionem qualquer vantagem competitiva ou uma maior agressividade à soja MON 87751, que resultaria em uma espécie invasiva. A característica de resistência a insetos não torna a soja MON 87751 uma planta daninha ou invasiva de habitats naturais, uma vez que as características reprodutivas e de desenvolvimento vegetativo da soja não foram alteradas. A única vantagem da soja MON 87751 é a resistência a insetos.

3.3 Os possíveis efeitos em organismos indicadores relevantes (simbiontes, predadores, polinizadores, parasitas ou competidores do OGM) nos ecossistemas onde se pretende efetuar o seu cultivo, em comparação com o organismo parental do OGM em um sistema de produção convencional.

A abundância de artrópodes na soja MON 87751 foi avaliada no Brasil em um levantamento da entomofauna na safra de 2013/2014 em cinco Estações Experimentais. Os dados do levantamento realizado foram apresentados na Tabela VII-2, página 226. A média donúmero total de insetos coletados com o auxílio do pano de batida nos estádios fenológicosV6-V8, R1-R2, R3-R4, R5, R6 e R7 nas parcelas com a soja MON 87751,soja controle convencional e referências convencionais de soja não apresentou diferença estatística entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional ($\alpha = 0,05$).

Estudos realizados nos Estados Unidos (dados não mostrados)para avaliardanos relacionados a *Cerotomatrifurcata*, e percevejos e abundância de artrópodes foram conduzidos em cinco locais sendo que em cada local, os danos causados por *Cerotomatrifurcata*foram avaliados duas vezes, enquanto que aqueles relacionados a percevejos foram avaliados uma vez durante a safra. A abundância de artrópodes foi avaliada a partir de coletas realizadas cinco vezes durante a safra em cada local. Na avaliação de danos relacionados a *Cerotomatrifurcata*, o danofoi nulo ou mínimo (dano médio por planta), para todos os dados coletados entre as observações e os locais impedindo que comparações estatísticas fossem realizadas entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional. As avaliações de danos relacionados a percevejoseabundância de artrópodes não mostraram diferença estatística entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional para a maioria das comparações. As diferenças encontradas entre a soja MON 87751 e a soja controle convencional incluíram dados de abundância para *Cerotomatrifurcata*, *Megacopectacribraria*, percevejos, aranhas e membros de Geocoridae, Nabidae, Phytoseiidae, Miridae e Thysanoptera. Nos casos em que os valores médios de abundância para a soja MON 87751 ficaram fora do intervalo das referências, as diferenças estatísticas não foram consistentemente detectadas entre as coletas ou os locais. Assim, as diferenças estatísticas para abundância de artrópodes não foram indicativas de uma resposta consistente associada à característica de resistência a insetos.

3.4 Capacidade de dispersão das estruturas de propagação e reprodução do OGM além das áreas de cultivo e os mecanismos de sua dispersão no ar, na água e no solo, fornecendo informações sobre a viabilidade do pólen da planta e indicando os agentes polinizadores potenciais e sua distribuição geográfica no Brasil.

Dormência, vigor e germinação de sementes: Estudos para obter informações sobre possíveis alterações do transgenes na dormência, vigor e germinação de sementes foram conduzidos no Brasil e EUA e não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre a soja MON87751 e as cultivares não geneticamente modificadas, detalhes desses estudos foram discutidos anteriormente nesse parecer.

Morfologia e viabilidade do pólen: Estudos sobre a morfologia e a viabilidade do pólen da soja MON 87751 foram avaliadas e comparadas às da soja controle convencional foram realizados no Brasil e nos EUA e também foram abordados anteriormente nesse parecer.

Agentes polinizadores e distribuição geográfica:Considerando que a soja é uma espécie autógama com baixo índice de fecundação cruzada a empresa mencionou alguns estudosobre polinização cruzada em soja conduzidos com e sem polinizadores suplementares. Um levantamento de valoração da polinização por abelhas estimou que 10% da produção da soja depende de polinização por insetos e que 50% destes são representados por abelhas (Morse e Calderone, 2003). Outros polinizadores da soja são tripes e outras espécies de himenópteros.Estudo de quatro anos sobre fluxo gênico no Japão encontrou um número menor de abelhas do que de outros prováveis polinizadores de espécies de Thysanoptera e Hemiptera, sendo que tripes, em especial da espécie *Frankliniella intonsa*, foram frequentemente observados dentro

ou próximos das flores (Yoshimura *et al.*, 2006). Com base em trabalhos científicos publicados a empresa discorreu sobre as espécies de abelhas presente no país e regiões de ocorrência dessas espécies. Nenhum estudo sobre a influência do transgene nesses insetos foi apresentado.

3.5 A possibilidade de formação de estruturas de reprodução de longo prazo no organismo

parental: Devido à ausência de dormência, as sementes de soja remanescentes no solo podem germinar rapidamente sob temperatura e umidade adequadas, podendo potencialmente crescer como plantas voluntárias. Essas plantas ficam sujeitas às variações ambientais, provavelmente não sobreviverão ao frio ou geadas durante o outono ou inverno na região Sul ou ao período de seca na região Centro Oeste. Caso elas se estabeleçam, não poderão competir com o plantio subsequente ou com colonizadores primários, podendo ser prontamente controladas por meios mecânicos ou químicos (OECD, 2000).

3.6 Frequência com que ocorre o cruzamento do organismo parental do OGM, dentro da mesma espécie e com espécies sexualmente compatíveis, arrolando as espécies avaliadas, as técnicas utilizadas e os efeitos resultantes:

Embora a soja seja um espécie de autofecundação, uma baixa porcentagem de fecundação cruzada poderá ocorrer, sendo que a frequência de cruzamento dependerá do genótipo, distancia, sincronia de florescimento, condições do ambiente, presença de polinizadores. Resultados dos estudos de fluxo gênico com a soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato e soja convencional foram utilizados para mostrar a baixa taxa de fluxo gênico na cultura da soja e embasar a conclusão de que os genes *cryIA.105* e *cry2Ab2* presentes na soja MON 87751 também apresentam baixa frequência de fluxo gênico, pois as características reprodutivas, não diferem entre a soja MON 87751 e variedades convencionais de soja.

Plantas geneticamente modificadas de soja contendo os genes *ahas*, que confere tolerância aos herbicidas da família das imidazolinonas, e o gene repórter *uidA*(GUS), foram cultivadas com plantas convencionais e a dispersão do pólen da soja geneticamente modificada foi avaliada por meio da presença de ambos os genes dominantes na progênie das plantas proporção de plantas tolerantes a herbicida em cada linha. A maior frequência de disseminação de pólen da soja tolerante a imidazolinonas foi observada na primeira linha, distante 0,5 metro do bloco central. Esta frequência foi muito reduzida na linha 2 até não ser mais observada na linha 13 a 6,5 metros do bloco central. Os resultados de literatura apresentados corroboram os resultados de cinco safras de monitoramento da soja RoundupReady® realizados no Brasil pela Monsanto, os quais fornecem informações sobre o fluxo gênico da cultura da soja e podem ser usados também para embasar conclusões sobre a soja MON 87751, uma vez que os dados agronômicos e fenotípicos mostram que a soja geneticamente modificada é equivalente à soja convencional exceto pela característica introduzida pela modificação intencional.

3.7 Efeitos resultantes da transferência horizontal para a microbiota do solo, caso ocorra:

A transferência de genes da soja para outras espécies sem a ocorrência de cruzamento sexual ainda não foi relatada. Microrganismos encontrados no solo ou em associações com as plantas, no rúmen ou no intestino de animais são capazes de receber DNA de outros organismos por meio de mecanismos especializados de transferência, como conjugação, transdução e transformação. A transferência horizontal entre bactérias é particularmente comum quando envolve a transferência de plasmídeos e de transposons. A transferência de DNA de plantas para bactérias, apesar de ser teoricamente possível, só foi conseguida sob condições otimizadas de laboratório e em frequências muito baixas. Na soja MON 87751, o gene *nptII* que codifica a enzima neomicina fosfotransferase tipo II (NPTII) não está presente no genoma da planta, e os genes *cryIA.105* e o *cry2Ab2* são derivados de *B. thuringiensis* estão amplamente dispersos no meio ambiente. Considera-se ainda, que a troca de genes entre microrganismos ocorre em frequências bem mais altas do que entre plantas e microrganismos. Conclui-se portanto que o risco de transferência horizontal de genes introduzidos na soja MON 87751 para outros organismos no meio ambiente é muito baixo.

3.8 Os impactos negativos e positivos aos organismos alvo e não alvo que poderão ocorrer com a liberação do OGM, arrolando as espécies avaliadas, as razões da escolha e as técnicas utilizadas para demonstrar os impactos: A soja geneticamente modificada MON 87751 contém os genes *cry1A.105* e *cry2Ab2* e os elementos genéticos reguladores responsáveis pela expressão da característica de resistência a insetos (conferida pela expressão das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2). A proteína Cry1A.105 quanto a Cry2Ab2 possuem atividade inseticida especificamente contra alguns insetos lepidópteros.

Eficácia da soja MON 87751 no controle de organismos alvo - estudos realizados no Brasil: A combinação de diferentes proteínas inseticidas para o controle da mesma praga alvo pode retardar drasticamente o estabelecimento da resistência, caso os insetos não apresentem mecanismos de resistência às diferentes proteínas de Bt. A piramidação de genes de resistência tem-se mostrado uma estratégia eficiente para retardar o aparecimento de pragas resistentes. A soja MON 87751 expressa as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, que representam dois modos de ação com atividade biológica sobre as seguintes pragas alvo: *Anticarsia gemmatalis*, *Chrysodeixis includens*, *Heliothis virescens*, *Crociosema aporema*, *Elasmopalpus lignosellus*, *Helicoverpa zea*, *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera cosmioide* e *Spodoptera eridania*. A empresa ressalta que a soja MON 87751 será piramidada, por meio de introgressão por melhoramento genético clássico, com a soja MON 87701, a qual expressa a proteína Cry1Ac. A soja resistente a insetos resultante da combinação desses dois eventos (MON 87751 e MON 87701) irá expressar concomitantemente três proteínas de Bt (Cry1Ac, Cry1A.105 e Cry2Ab2) visando uma maior efetividade no manejo das pragas alvo. Um estudo objetivando avaliar a eficácia individual da soja MON 87751 (Cry1A.105 e Cry2Ab2) e da soja Intacta RR2 PRO, que contém o evento MON 87701 (Cry1Ac) no manejo de espécies de lepidópteros em condições de campo foi realizado em três Estações Experimentais, Não-Me-Toque, RS, Rolândia, PR, Santa Cruz das Palmeiras, SP. A incidência de espécies de lepidópteros responsáveis por danos de desfolha na cultura da soja foi observada nas três localidades em que o estudo foi conduzido. Dentre as espécies responsáveis por este tipo de dano, as duas principais lagartas encontradas durante as avaliações de batidas de pano nas três localidades foram a lagarta falsa medideira (*Chrysodeixis includens* Walker), e a lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis* Hubner). Ambos os tratamentos envolvendo a soja com resistência a insetos (MON 87751 e INTACTA RR2 PRO) foram eficazes no manejo das espécies de lepidópteros presentes na cultura, e não apresentaram danos de desfolha durante todo o ciclo da cultura. Níveis crescentes de desfolha foram observados ao longo do desenvolvimento da cultura, e atingiram cerca de 50% de desfolha na soja não Bt sem manejo com inseticida no estádio R6. Os tratamentos de soja Bt (MON 87751 e INTACTA RR2 PRO) resultaram em significativa redução na desfolha das plantas de soja. Os resultados desse estudo foram apresentados

Impacto sobre organismos não alvo: As proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 produzidas na soja MON 87751 compartilham de mais de 99% e 98% da sequência de aminoácidos, respectivamente, com as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 produzidas no milho MON 89034. Adicionalmente, domínios do núcleo resistente a proteases das proteínas modificadas Cry1A.105 e Cry2Ab2 expressas na soja MON 87751 compartilham 100% da identidade das sequências com suas contrapartes expressas no milho MON 89034. Os dados de organismos não alvo produzidos para o milho MON 89034 foram aplicados para a soja MON 87751. O potencial de efeitos adversos das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 em organismos não alvo foi avaliado para um grupo padrão de organismos teste. Dois decompositores de solo [minhoca (*Eisenia fetida*) e Collembola (*Folsomia candida*)], e quatro espécies de insetos benéficos [abelha (*Apis mellifera*), vespa parasitoide (*Ichneumon promissorius*), joaninha (*Coleomegilla maculata*), e percevejo predador (*Orius insidiosus*)]. Os resultados dos bioensaios foram apresentados na Tabela VII-30, página 271 do relatório em análise. Os resultados demonstram que as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 expressas na soja MON 87751 provavelmente não produzem efeitos adversos sobre espécies benéficas invertebradas nos níveis de exposição encontrados no campo. Essa conclusão corrobora a avaliação prévia das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 expressas no milho MON 89034, a qual determinou que é

improvável que as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 causem efeitos deletérios em insetos não lepidópteros nos níveis de exposição relevantes no campo.

Espectro de atividade inseticida das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2: Essa conclusão corrobora a avaliação prévia das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 expressas no milho MON 89034, a qual determinou que é improvável que as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 causem efeitos deletérios em insetos não lepidópteros nos níveis de exposição relevantes no campo (U.S. EPA, 2010b).

Espectro de atividade inseticida das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2: Foram testadas 14 espécies de insetos (descritas na página 273) nos estudos de espectro de atividade e de organismos não alvo. Os protocolos de bioensaios usados nesses testes variaram de acordo com o inseto, mas em cada caso os insetos foram expostos a concentrações das proteínas Cry1A.105 ou Cry2Ab2 suficientes para detectar a atividade inseticida contra os insetos sensíveis às proteínas Cry1 e Cry2. Os bioensaios incluíram protocolos bem estabelecidos de incorporação da proteína em dieta e sobreposição. Adicionalmente, testes de campo para avaliar eficácia confirmaram que a soja MON 87751 fornece proteção contra danos por alimentação causados por lepidópteros praga. Com base nos resultados combinados para os estudos de espectro de atividade e toxicidade a organismos não alvo, a atividade inseticida mostrou-se altamente específica para espécies de insetos lepidópteros, confirmando que o uso agrônomico da soja MON 87751 será específico para o controle de algumas espécies de lepidópteros praga.

Suscetibilidade de organismos não alvo das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2: Relatos de efeitos adversos significativos em algumas espécies de organismos não alvo que têm relação próxima com as espécies alvo são encontrados (Mendelsohn *et al.*, 2003; Romeiset *et al.*, 2006b). Por outro lado estudos de campo com culturas resistentes a insetos que produzem vários tipos de proteínas Cry vêm sendo conduzidos pela indústria e pela comunidade acadêmica desde o advento dessas culturas e demonstraram que elas não causam efeitos adversos sobre a biodiversidade, as populações de inimigos naturais testadas e outros insetos não alvo ecologicamente importantes (Bhattiet *et al.*, 2005; Bitzeret *et al.*, 2005; Daly e Buntin, 2005; Dively, 2005; Head *et al.*, 2005)

Impacto sobre espécies ameaçadas de extinção: As proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 expressas na soja MON 87751 possuem atividade inseticida específica contra insetos lepidópteros e não há evidências de que afetem espécies benéficas de invertebrados terrestres nos níveis de exposição no campo. A soja é uma espécie altamente autopolinizada e seu pólen está essencialmente contido nas flores. Porém a exposição de lepidópteros ameaçados ou em risco de extinção ao pólen da soja MON 87751 poderá ocorrer por consumo direto de plantas de soja ou do pólen que se deposita em plantas de outras espécies dentro dos campos de produção ou em seu entorno. A exposição a quantidades significativas das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 via consumo de pólen é improvável, pois pouco pólen deve ser liberado de flores autopolinizadas. Em campos de soja, densidades de pólen no ar foram medidas a 0,18 grãos/cm²/dia, com exposição máxima de 0,368 grãos/cm²/dia (Yoshimura *et al.*, 2006).

Destino ambiental das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 e impacto sobre organismos de solo:

Organismos de solo podem ser expostos às proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 da soja MON 87751 por meio do contato com as raízes, com os restos culturais no solo ou com o pólen depositado no solo. A exposição de microrganismos pode ocorrer por alimentação na biomassa viva ou morta da soja, ou pela ingestão ou absorção das proteínas Cry após a sua liberação no solo. Algumas características do solo como pH e conteúdo de argila podem alterar a taxa de degradação das proteínas Cry. Estudos publicados na literatura sugerem que as proteínas Cry podem se ligar à argila no solo e se tornar mais resistentes a degradação por microrganismos (Fiorito *et al.*, 2008; Stotzky, 2004). Estudos demonstram que o pH do solo próximo ou acima da neutralidade aumenta substancialmente a degradação de proteínas Cry (Tapp e Stotzky, 1998), condições encontradas na maioria das áreas de produção. Alguns estudos de laboratório para verificar a degradação de proteínas Cry em solo foram conduzidos, testando várias proteínas Cry (Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry3Bb1, Cry1F, Cry34/35), e os resultados evidenciam que

essas proteínas não persistem no solo.

A empresa relata um estudo realizado no Brasil para obter informações sobre o número de unidades formadoras de colônias de bactérias, fungos e actinomicetes em amostras de solo oriundas de parcelas cultivadas com a soja MON 87751 em comparação a amostras de solo oriundas de parcelas cultivadas com a soja controle convencional. As amostras de solo foram coletadas no estágio fenológico R8 e enviadas para a Estação Experimental da Monsanto em Santa Cruz das Palmeiras, SP, onde se realizou a quantificação dos microrganismos em meio seletivo para contagens após diluições sucessivas em solução isotônica. Os dados obtidos de UFC/g de solo (unidades formadoras de colônia) das amostras de solo das parcelas com a soja MON 87751 foram comparados aos dados das amostras de solo com a soja controle convencional e ao intervalo de resultados das referências comerciais, em análise individual por local. Os dados coletados foram submetidos à análise estatística por meio do teste t ($P \leq 0,05$) para a comparação das médias da soja MON 87751 em relação à soja controle convencional. Os resultados de unidades formadoras de colônia de bactérias, fungos e actinomicetes por grama de solo seco são apresentados na Tabela VII-34 página 285. Seis comparações de médias foram realizadas e nenhuma diferença significativa foi encontrada entre as amostras de solo provenientes das parcelas cultivadas com a soja MON 87751 e as amostras de solo provenientes das parcelas cultivadas com a soja controle convencional. Os resultados demonstram que o número de unidades formadoras de colônias de bactérias, fungos e actinomicetes das amostras de solo da soja MON87751 não difere consistentemente das amostras de solo da soja controle convencional. Conclui-se portanto que as variações na contagem de microrganismos são naturais e não influenciadas pela presença das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 codificadas pela soja MON 87751.

3.9 As modificações da capacidade da planta em adicionar ou remover substâncias do solo em decorrência da introdução de novas características, descrevendo possíveis alterações físicas e químicas no solo e contaminação dos corpos d'água adjacentes resultantes das interações com o OGM, comparativamente aos sistemas convencionais:

Estudo realizado no Brasil para obter informações sobre possíveis alterações nos atributos físico-químicos de amostras de solo de parcelas cultivadas com a soja MON 87751 em comparação à soja controle convencional, ambas coletadas em seis Estações Experimentais da Monsanto no estágio fenológico R8. Uma parte das amostras foi enviada para o Laboratório de Solos da Universidade de Passo Fundo, em Passo Fundo, RS (qualificado na Rede Oficial de Laboratórios de Análise de Solo e de Tecido Vegetal dos Estados do RS e SC - ROLAS), para realização das análises químicas. Outra parte das amostras foi enviada para a Estação Experimental da Monsanto de Não-Me-Toque, RS, para realização das análises físicas. Os resultados das amostras de solo coletadas nas parcelas com a soja MON 87751 foram comparados aos das amostras de solo coletadas nas parcelas com a soja controle convencional e ao intervalo de resultados das amostras de solo coletadas nas parcelas com as referências comerciais, em análise individual por local. Os resultados mostram que na análise por local, dentre 66 comparações observou-se apenas três diferenças significativas pelo teste t ($p \leq 0,05$). O teor de argila em Não me Toque -RS (40,8 vs. 40,0 %), o teor de Mg em Santa Cruz das Palmeiras - SP (1,8 vs. 1,3 cmolc/ dm³) e a saturação por bases em Santa Cruz das Palmeiras - SP (68,8 vs. 61,4 %) foram significativamente superior na soja MON 87751 em relação à soja controle convencional, porém se apresentaram dentro do intervalo de resultados encontrados para as referências comerciais. Os dados demonstram que a presença das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 no material vegetal original da soja MON 87751 ou em restos culturais depositados sobre o solo, não interferem na composição físico-química das amostras de solo estudadas em seis locais representativos do cultivo desta cultura.

3.10 As possíveis modificações da biodegradabilidade da planta GM comparativamente ao genótipo parental: Um estudo foi realizado com o objetivo de estimar a taxa de degradação aeróbica das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 em solos brasileiros. A soja MON 87751, a qual contém as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 e soja controle convencional cultivar MSOY5942 foram incorporadas em solo na forma de tecido liofilizado de forragem. Foram utilizados dois tipos de solos brasileiros (LVf e RQ) na taxa de 50 mg de biomassa de soja por grama de solo, para produzir um grande excesso das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2. Ambos os solos diferiam em suas características físico-químicas e as mesmas foram apresentadas na Tabela VII-36. O solo LVf continha 60% de argila, 25% de areia e 15% de silte, além de pH 6,0. O solo RQ continha 10% de argila, 88% de areia e 1,7% de silte, além de pH 7,0. O tempo para 50% de degradação (DT50) das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 em solo foi calculado dos dados de ELISA usando o método estatístico SAS. Os resultados mostraram que as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 se degradaram prontamente nos dois solos. A DT50 calculada foi menos que 33 dias em ambos os solos para as duas proteínas expressas na soja MON 87751. A degradação foi mais rápida no solo LVf (DT50 ~ 11 dias) que no solo RQ (DT50 ~ 33 dias), provavelmente devido às diferenças em textura (areia, argila e silte) e matéria orgânica.

Os resultados demonstraram que a proteína Cry2Ab2 produzida pela soja MON 87751 é quase completamente degradada em 30 dias da incorporação nos solos brasileiros. A proteína Cry1A.105 se degrada dentro dos primeiros dois meses, como indicado pela DT50 máxima de 33 dias. Os dados de dissipação em solo sugerem que as proteínas na soja MON 87751 provavelmente não persistem nem se acumulam no meio ambiente. Esses resultados são consistentes com estudos de degradação anteriores com as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 do milho MON 89034 em solos brasileiros.

3.11 Possível resistência a agentes químicos conferida pela característica introduzida: Os genes inseridos na soja MON87751 foram o *cry1A.105* e o *cry2Ab2* que conferem resistência a insetos lepidópteros, não conferindo resistência a agentes químicos.

3.12 O histórico de uso do OGM e os países onde já foram autorizadas ou recusadas a sua comercialização e plantio apresentando, neste caso, dados de monitoramento ou de estudos pós-liberação comercial, se houver: A soja MON 87751 foi autorizada pela CTNBio para diversas liberações planejadas no meio ambiente. Nessas liberações planejadas no meio ambiente a soja MON 87751 ainda não tinha essa nomenclatura, sendo referida como A841661. Algumas liberações planejadas no meio ambiente foram de eventos combinados com a soja MON 87751, para liberações futuras. Segundo informações publicadas pela ISAA (2016) a soja MON 87751 encontra-se aprovada para cultivo na Austrália (2016); Canadá (2014); Japão (2016); Nova Zelândia (2016); Coreia do Sul (2016); Taiwan (2016 e EUA (2014).

3.13 As alterações na capacidade de sobrevivência do OGM em ambientes distintos daqueles ocupados pelo parental, provocadas pelas novas características introduzidas: As espécies *Glycine* (*Glycinemax*L.) não exibem características de plantas daninhas como longa persistência das sementes no solo, habilidade de dispersão, capacidade invasiva e de se tornar espécie dominante em paisagens novas ou diversas, ou habilidade de competir bem com vegetação nativa. As sementes não possuem dormência, germinando rapidamente sob temperatura e umidade adequadas e podem crescer como plantas voluntárias. Populações selvagens de espécies *Glycine* não são encontradas no Brasil, portanto é improvável que a soja MON 87751 cruze com plantas daninhas e se torne um problema como planta invasora. Os resultados das avaliações para vigor e germinação das sementes, viabilidade e morfologia de pólen, características agrônomicas e morfológicas, e potencial como plantas voluntárias, provenientes de estudos realizados no Brasil, e nos Estados Unidos, indicaram que não há diferença fundamental entre a soja MON 87751 e as variedades convencionais de soja para características relacionadas à capacidade invasiva. Esses resultados permitem concluir que a soja MON 87751 não possui maior potencial como planta daninha se comparada às variedades convencionais de soja.

4- CONCLUSÕES

O Relatório de Biossegurança Ambiental e Alimentar da Soja MON 87751 analisado atendeu aos preceitos da Resolução Normativa N.5 da CTNBio, que trata da Liberação Comercial de Organismos Geneticamente modificados e seus derivados.

Os resultados dos estudos realizados no Brasil e nos EUA e de informações referenciadas pela literatura científica, abrangendo: a caracterização do inserto o qual demonstrou que a soja MON 87751 contém uma única cópia do DNA desejado (T-DNA I), e que o mesmo está estavelmente integrado em um único *locus* e é herdado como um caráter monogênico e ausência de genes marcadores de seleção que conferem resistência a antibióticos; avaliação agrônômica, expressão das proteínas exógenas (Cry1A.105 e Cry2Ab2); composição química e nutricional; estabilidade à digestão e ao processamento industrial; digestibilidade e termoestabilidade das proteínas expressas; avaliações de degradação de biomassa; de abundância de microrganismos de solo, de morfologia e viabilidade de pólen; de plantas voluntárias; de interações ecológicas e simbióticas; de vigor e germinação de semente; de eficácia no controle de insetos; de características físico-químicas de solo; de degradação das proteínas em solos brasileiros demonstraram que a soja geneticamente modificada MON87751, contendo os genes *cry1A.105* e o *cry2Ab2* não possui maior potencial para causar significativa degradação do meio ambiente, ou para apresentar efeitos adversos à saúde humana e animal quando comparada com a soja convencional.

5- LITERATURA

Bhatti, M.A., Duan, J., Head, G.P., Jiang, C., McKee, M.J., Nickson, T.E., Pilcher, C.L. e Pilcher, C.D. 2005. Field evaluation of the impact of corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae)-protected *Bt*corn on ground-dwelling invertebrates. *Environmental Entomology* 34: 1325-1335.

Bitzer, R.J., Rice, M.E., Pilcher, C.D., Pilcher, C.L. e Lam, W.K.F. 2005. Biodiversity and community structure of epedaphic and euedaphic springtails (Collembola) in transgenic rootworm *Bt*corn. *Environmental Entomology* 34: 1346-1376.

Daly, T. e Buntin, G.D. 2005. Effect of *Bacillus thuringiensis* Transgenic Corn for Lepidopteran Control on Nontarget Arthropods. *Environ. Entomol.* 34: 1292-1301.

Betz, F.S., Hammond, B.G. e Fuchs, R.L. 2000. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 32: 156-173.

Codex. 2003. Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants. Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. p. 18.

Codex. 2009. Foods derived from modern biotechnology. Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Dively, G.P. 2005. Impact of transgenic VIP3A × Cry1Ab Lepidopteran-resistant field corn on the nontarget arthropod community. *Environmental Entomology* 34: 1267-1291.

- Fiorito, T.M., Icoz, I. e Stotzky, G. 2008.** Adsorption and binding of the transgenic plant proteins, human serum albumin, β -glucuronidase, and Cry3Bb1, on montmorillonite and kaolinite: Microbial utilization and enzymatic activity of free and clay-bound proteins. *Applied Clay Science* 39: 142-150.
- Greenplate, J.T., Mullins, J.W., Penn, S.R., Dahm, A., Reich, B.J., Osborn, J.A., Rahn, P.R., Ruschke, L. e Shappley, Z.W. 2003.** Partial characterization of cotton plants expressing two toxin proteins from *Bacillus thuringiensis*: Relative toxin contribution, toxin interaction, and resistance management. *Journal of Applied Entomology* 127: 340-347.
- Hammond, B. e Cockburn, A. 2008.** The safety assessment of proteins introduced into crops developed through agricultural biotechnology: a consolidated approach to meet current and future needs. In: Hammond, B., editor *Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology*. CRC Press - Taylor and Francis Group, LCC., Boca Raton, Florida, EUA. p. 259-288.
- Head, G., Moar, W., Eubanks, M., Freeman, B., Ruberson, J., Hagerty, A. e Turnipseed, S. 2005.** A multiyear, large-scale comparison of arthropod populations on commercially managed Bt and non-Bt cotton fields. *Environmental Entomology* 34: 1257-1266.
- Hymowitz, T., Palmer, R.G. e Singh, R.J. 1992.** Cytogenetics of the genus *Glycine*. In: Tsuchiya, T. e Gupta, P. K., editors, *Chromosome Engineering in Plants: Genetics, Breeding and Evolution*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Netherlands. p. 53-63.
- Hymowitz, T. e Singh, R.J. 1992.** Biosystems of the genus *Glycine*, 1991. *Soybean Genetics Newsletter* 19: 184-185.
- Icoz, I. e Stotzky, G. 2008.** Cry3Bb1 protein from *Bacillus thuringiensis* in root exudates and biomass of transgenic corn does not persist in soil. *Transgenic Research* 17: 609-620.
- Hymowitz, T. 2004.** Speciation and cytogenetics. In: Boerma, H. R. e Specht, J. E., editors, *Soybeans: improvement, production, and uses*. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin. p. 97-136
- ISAAA -International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications' disponível em** <http://www.isaaa.org/>, Acesso em dezembro de 2016.
- Lu, B.-R. 2004.** Conserving biodiversity of soybean gene pool in the biotechnology era. *Plant Species Biology*. 19: 115-125.
- Miyasaka, S. e Medina, J.C. 1977.** A soja no Brasil. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL. 1062p.
- Morse, R.A. e Calderone, N.W. 2003.** The value of honey bees as pollinators of U.S. crops in 2000. Disponível em: <http://www.beeeculture.com/beeeculture/pollination2000/pg1.html>
- Mendelsohn, M., Kough, J., Vaituzis, Z. e Matthews, K. 2003.** Are Bt crops safe? *Nature Biotechnology* 21: 1003-1009.
- OECD. 2000.** Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (soybean). ENV/JM/MONO(2000)9. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology N°. 15. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, France
- Romeis, J., Meissle, M. e Bigler, F. 2006.** Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nature Biotechnology* 24: 63-71.

Stotzky, G. 2004. Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*, especially from transgenic plants. *Plant and Soil* 266: 77-89.

Staton, M. 2012. Managing soil pH for optimal soybean production. Michigan State University Extension, East Lansing, Michigan.

Tapp, H. e Stotzky, G. 1998. Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 471-476.

U.S. EPA. 2001. Biopesticides registration action document, revised risks and benefits section, *Bacillus thuringiensis* plant-pesticides. United States Environment Protection Agency, Washington, DC.

Yoshimura, Y., Matsuo, K. e Yasuda, K. 2006. Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. *Environmental Biosafety Research* 5: 169-173.

6 - Votos Contrários

Votaram pelo indeferimento da Proposta:

- Isaque Medeiros – Representante do Ministério do Meio Ambiente
- Hur Ben Corrêa da Silva – Representante do Ministério do Desenvolvimento Agrário
- Mohamed Ezz El-Din Mostafa Habib – Especialista em Meio Ambiente
- João Dagoberto dos Santos – Especialista em Agricultura Familiar



Documento assinado eletronicamente por **Edivaldo Domingues Velini, Pesquisador**, em 22/03/2017, às 07:57, conforme art. 3º, III, "b", das Portarias MC nº 89/2014 e MCTIC nº 34/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <http://sei.mc.gov.br/verifica.html> informando o código verificador **1724655** e o código CRC **00A78A5A**.