

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio
PARECER TÉCNICO Nº 5832/2018
Liberação comercial de organismo geneticamente modificado (RN5)

Processo: 01200.005685/2015-81

Data de Protocolo: 16/12/15

Próton: 79206/2015

Requerente: Monsanto do Brasil Ltda.

CQB: 0003/96

CNPJ: 64.858.525/0001-45

Endereço: Avenida Nações Unidas, nº 12901, 3º, 7º, 8º, 9º e 19º andares, São Paulo (SP)

Presidente da CIBio: Geraldo U. Berger

Extrato Prévio: 4651/2015, publicado em 11/6/15

Resolução Normativa: RN 05/2008

Reunião: 210ª Reunião ordinária, ocorrida em 8 de março de 2018

Decisão: DEFERIDO

Assunto: Liberação Comercial de soja geneticamente modificada (MON 87751 x MON 87708 x MON87701 x MON 89788) resistente a insetos e tolerante a herbicidas

I – INFORMAÇÕES RELATIVAS AO OGM

Descrição do OGM: Soja geneticamente modificada resistente a insetos e tolerante a herbicidas.

Classificação: Classe de Risco I

Resolução Normativa: RN 5/2008

1. Identificação do OGM

Designação do OGM: Soja MON 87751 x MON 87708 x MON87701 x MON 89788, denominada Soja Combinada I.

Espécie: *Glycine max*

Característica Inserida: resistência a insetos e tolerância a herbicida.

Método de introdução da característica: A soja MON 87751 × MON 87708 × MON 87701 × MON 89788 é resultante do cruzamento da soja MON 87701 × MON 89788 (resistente a insetos e tolerante ao glifosato) com a soja MON 87708 (tolerante ao dicamba) e a soja MON 87751 (resistente a insetos) por meio de técnicas de melhoramento genético clássico.

Uso proposto: uso comercial e quaisquer outras atividades relacionadas a soja geneticamente modificado resistente a insetos e tolerante ao glifosato (MON 87751 x MON 87708 x MON87701 x MON 89788) e suas progênes

2. **Proteínas Expressas:**

- Cry1Ac – Confere resistência a insetos;
- Cry1A.105 - Confere resistência a insetos;
- Cry2Ab2- Confere resistência a insetos;
- CP4 EPSPS – Confere tolerância ao herbicida glifosato;
- DMO – Confere tolerância ao herbicida dicamba.

3. **Fundamentação Técnica:**

3.1. Introdução

Trata-se de solicitação da empresa Monsanto do Brasil Ltda., que na forma da Lei 11.105/2005 e da Resolução Normativa nº 05, requerer que seja emitido Parecer Técnico e publicada Decisão Técnica relativa à biossegurança da soja MON 87751 × MON 87708 × MON 87701 × MON 89788 resistente a insetos e tolerante aos herbicidas dicamba e glifosato, para efeito de sua liberação no meio ambiente, seu uso comercial e quaisquer outras atividades relacionadas a esse produto combinado por melhoramento genético clássico e quaisquer progênes dele derivadas.

A soja MON 87751 × MON 87708 × MON 87701 × MON 89788 é resultante do cruzamento da soja MON 87701 × MON 89788 (resistente a insetos e tolerante ao glifosato) com a soja MON 87708 (tolerante ao dicamba) e a soja MON 87751 (resistente a insetos) por meio de técnicas de melhoramento genético clássico. Como resultado da combinação desses eventos de transformação, a soja MON 87751 × MON 87708 × MON 87701 × MON 89788 contém as características de resistência a insetos conferida pelas proteínas Cry1Ac, Cry1A.105 e Cry2Ab2, de tolerância ao herbicida glifosato conferida pela proteína CP4 EPSPS e de tolerância ao herbicida dicamba conferida pela proteína DMO. A soja MON 87751 × MON 87708 × MON 87701 × MON 89788 será referida neste parecer como Soja Combinada 1.

A proteína Cry1Ac promove a proteção contra os danos causados pelo ataque de espécies alvo de lepidópteros e não tem atividade biológica observada contra outras ordens de insetos como dípteros, coleópteros e neurópteros. O gene cry1Ac foi transferido para o genoma da soja através de transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, utilizando-se o vetor de transformação de plantas PV-GMIR9.

O conceito da soja MON 87701 é reduzir as atuais aplicações de inseticidas realizadas para controlar lepidópteros praga nas regiões de produção de soja, principalmente as tropicais e subtropicais, que sofrem os maiores ataques destes insetos, os quais causam danos às plantas e conseqüentes perdas na produção. A proteína Cry1Ac é expressa durante toda a safra nas folhas da soja MON 87701, propiciando proteção contra o ataque dos lepidópteros praga que são alvos primários da tecnologia, tais como a lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*) e a falsa medideira (*Chrysodeixis includens*), e os lepidópteros praga secundários, como a broca das axilas (*Crociosema aporema*) e uma segunda lagarta falsa medideira (*Rachiplusia nu*), embora estas duas últimas espécies não apresentem uma distribuição generalizada no Brasil. Os resultados obtidos mostram que a expressão da proteína Cry1Ac nas folhas da soja MON 87701 ao longo da safra se dá em níveis suficientes para garantir alta eficácia na proteção em campo contra as espécies de lepidópteros alvo.

A soja MON 89788 teve o gene cp4 epsps introduzido no genoma da cultura, conferindo a capacidade de expressão da proteína CP4 EPSPS na planta e a característica de tolerância ao glifosato. Este evento faz parte da soja MON 87701 × MON 89788 (aprovada pela CTNBio em agosto/2010). O gene cp4 epsps é derivado da bactéria *Agrobacterium* sp. cepa CP4 e foi inserido no genoma da cultivar Asgrow A3244, conhecida por um superior desempenho agrônômico e por suas propriedades de alto rendimento. A soja MON 89788 foi produzida pela metodologia de transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, mas nesse caso o plasmídeo PV-GMGOX20 foi utilizado. Portanto, a soja MON 89788 pode ser submetida a aplicações de herbicidas à base de glifosato na pós-emergência das plantas sem provocar danos ou injúria, o que permite o controle eficiente de plantas daninhas de folhas largas e folhas estreitas.

Um terceiro evento geneticamente modificado, a soja MON 87708, que contém o gene dmo (demetilase) oriundo da bactéria *Stenotrophomonas maltophilia* cepa DI-6, o qual expressa a proteína dicamba monoxigenase (DMO), responsável pela característica de tolerância ao herbicida dicamba. A soja MON 87708 foi desenvolvida utilizando-se a metodologia de transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens* e o plasmídeo PV-GMHT4355, que foi inserido na soja convencional A3525. A proteína DMO catalisa a adição de uma molécula de oxigênio molecular (O₂) ao grupo metil do dicamba, o que leva à conversão do dicamba em um produto não herbicida chamado ácido 3,6-diclorossalicílico (DCSA), formaldeído (CH₂O) e água (H₂O). A DMO funciona como parte do sistema de três componentes do dicamba O-demetilase que depende de uma redutase e uma ferredoxina endógenas. Similar a todos os sistemas conhecidos como Rieske oxigenase, a redutase aceita elétrons do NADH e os transfere para a ferredoxina.

A Monsanto desenvolveu ainda a soja MON 87751, que produz as proteínas inseticidas Cry1A.105 e Cry2Ab2 (δ-endotoxinas) derivadas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) subsp. kurstaki. As proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 propiciam proteção contra os danos causados pela alimentação de algumas pragas lepidópteras. Os genes cry1A.105 e cry2Ab2 foram transferidos para o genoma de células de soja usando o sistema de transformação mediado por *Agrobacterium tumefaciens* e o plasmídeo PV-GMIR13196, que contém os genes e elementos genéticos necessários para a expressão de proteínas funcionais que conferem a característica desejada de resistência a insetos. As proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 expressas na soja MON 87751 possuem mais de 99% e 98% de identidade de aminoácidos, respectivamente,

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). O conceito de produto da soja MON 87751 é reduzir as atuais aplicações de inseticidas para controlar pragas lepidópteras em regiões de produção de soja onde esses insetos causam danos significativos nas plantas e perda de rendimento. A soja MON 87751 confere proteção contra a lagarta da soja (*Anticarsia gemmatilis*) e a falsa medideira (*Chrysodeixis includens*), e os lepidópteros praga secundários como a broca das axilas (*Crociosema aporema*), uma segunda lagarta falsa medideira (*Rachiplusia nu*), elasma (*Elasmopalpus lignosellus*), a lagarta das maçãs (*Heliothis virescens* e *Helicoverpa zea* e *H. armigera*) e as Spodópteras (*Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera cosmioides* e *Spodoptera eridania*). Assim, além de possuir um maior espectro de pragas alvo, a Soja Combinada 1 possui maior valor do ponto de vista de Manejo de Resistência da Insetos (MRI) por conter mais modos de ação contra a mesma praga alvo. Além disso, a tolerância a dois herbicidas com mecanismos de ação distintos também é uma ferramenta fundamental como parte do Manejo de Resistência de Plantas Daninhas (MRPD), ajudando a diversificar o manejo de plantas daninhas e evitar a seleção de populações resistentes aos mesmos.

3.2 Análise de Risco de Produtos Combinados por Melhoramento Genérico Clássico.

A Soja Combinada 1 atende o pré-requisito fundamental disposto no Artigo 4º da Resolução Normativa nº 5 da CTNBio publicada em 12 de março de 2008. O referido artigo estabelece que “A critério da CTNBio, sob consulta, poderão ser dispensadas a análise e a emissão de novo parecer técnico sobre OGMs que contenham mais de um evento, combinados através de melhoramento genético clássico e que já tenham sido previamente aprovados para liberação comercial pela CTNBio”. Ainda, a Resolução Normativa nº 5 da CTNBio teve dispositivos alterados recentemente pela Resolução Normativa nº 15, de 13 de fevereiro de 2015, acrescentando os Artigos 4º-A e 4º-B, na forma a seguir: “Art. 4º-A: A decisão favorável à liberação comercial de Organismo Geneticamente Modificado - OGM que contenha mais de um evento, combinados através de melhoramento genético clássico, cujos eventos individuais tenham sido previamente aprovados para liberação comercial pela CTNBio, aplicar-se-á às combinações possíveis dos eventos individuais, conforme solicitado pela requerente. Art. 4º-B: O cancelamento da liberação para uso comercial de um evento aplicar-se-á também às combinações que o contenham.”

Portanto todas as proteínas expressas na Soja Combinada 1 e já aprovadas pela CTNBio, Cry1Ac, Cry1A.105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS e DMO, mostram que não causam efeitos para o meio ambiente e para a saúde humana e animal. Os estudos que avaliaram os eventos que originaram a Soja Combinada 1 concluíram que estes são tão seguros quanto a soja convencional; a avaliação de biossegurança dos eventos presentes na Soja Combinada 1 teve como base as informações geradas sobre os níveis de expressão das proteínas exógenas em tecidos das plantas, os seus modos de ação, os locais de atividade biológica e os históricos de uso seguro dos eventos aprovados. Não se pode aplicar o princípio de precaução em uma tecnologia que é utilizada desde 1996 e até hoje nenhum relato de efeito adverso na saúde humana, animal e no meio ambiente foi relatado (Domingo, 2016). Os eventos estaqueados foram lançados em 1999 e também nenhum relato de efeito adverso foi relatado.

Segundo a Opinião Científica da European Food Safety Authority (EFSA) publicada em 2011 (EFSA, 2011), para plantas que combinam eventos de transformação por melhoramento genético clássico, a preocupação primária da avaliação de risco deve focar na estabilidade dos insertos e na ausência de interação entre eles, além dos potenciais efeitos sinérgicos ou antagonísticos resultantes da combinação das proteínas exógenas expressas neles. Dependendo da conclusão dessa análise, então informações toxicológicas e nutricionais poderiam ser requeridas. Antes dessa publicação, a EFSA já havia publicado orientação no sentido de avaliação de risco de produtos combinados de eventos que já estivessem avaliados (EFSA, 2007). Nela a EFSA orientava que os produtos combinados deveriam ser avaliados com foco na estabilidade dos insertos, na expressão das proteínas e nas interações potenciais entre os eventos (EFSA, 2007).

Pilacinski et al., 2011 mencionam que as agências de regulamentação nos Estados Unidos, Canadá e Austrália, por exemplo, não têm requisitado dados regulatórios adicionais para produtos combinados de eventos previamente aprovados, caso as características não interajam de maneira que possa afetar a segurança do produto ou mudar alguma conclusão da avaliação de segurança feita para os eventos já avaliados. Essa abordagem é discutida em outras publicações que procuram enfatizar que primeiro é preciso avaliar a possibilidade de interações e, se elas ocorrerem, então avaliar se essas interações possam afetar a segurança (Steiner et al., 2013). O caminho, caso a interação seja considerada improvável, seria não ter uma avaliação adicional para o produto combinado, uma vez que os eventos que o compõem já teriam passado por avaliações rigorosas, sendo considerados tão seguros quanto a planta convencional. No caso da hipótese de que existam interações possíveis, os efeitos poderiam ser previstos a partir das avaliações dos eventos que foram cruzados para gerar o produto combinado, mas a natureza da interação teria que ser avaliada quanto ao seu impacto na segurança alimentar. Não havendo impacto na segurança, também não seriam necessários mais estudos com o produto combinado (Steiner et al., 2013).

Kok et al (2014) concordam que não deveria haver avaliações adicionais para produtos combinados de eventos geneticamente modificados em avaliações de segurança alimentar padrão. Os autores mencionam ainda que não existem indicações que justifiquem uma atenção especial para cruzamentos entre plantas geneticamente modificadas com relação a estabilidade genética, expressão de novos genes e novas interações na planta geneticamente modificada resultante. Entretanto, isso não exclui a possibilidade de considerar a avaliação caso a caso se houver alguma razão baseada em dados científicos que possa requerer mais informações ou dados no produto combinado, o que estaria em acordo com a abordagem defendida por órgãos como FAO/WHO, OECD e EFSA.

A Crop Life International publicou uma posição sobre o assunto em 2015, baseada no racional científico de que a segurança de produtos combinados não é diferente da segurança de combinações de características de plantas convencionais por melhoramento clássico (CLI, 2015). Portanto, as avaliações de risco desses produtos são, na maior parte dos casos, desnecessárias. A Crop Life International lista várias publicações que têm essa mesma conclusão (Pilacinski et al., 2011; Raybould, 2010; Weber et al., 2012; WHO, 1995).

Um workshop sobre avaliação de segurança de plantas geneticamente modificadas realizado em 2013, em Buenos Aires, Argentina, reuniu vários especialistas no assunto e fez algumas recomendações (Bartholomaeus et al., 2015). Os autores

relembrem que a combinação de características de diversas fontes de germoplasma tem sido feita de maneira segura por melhoramento genético convencional por muito tempo, sendo a base para as variedades modernas. O potencial de perigo em ambos é teoricamente remoto e sem evidência que o suporte. Para a maioria dos casos é possível avaliar o potencial de interações que podem aumentar o risco usando a informação disponível para os eventos individuais e a cultura (Bartholomaeus et al., 2015; Steiner et al., 2013; Wolt et al., 2010). Todos os produtos combinados podem passar por uma avaliação teórica para determinar se qualquer perigo possível tem um risco plausível, fator que é dependente do nível de exposição a este risco.

3.3. Níveis de Expressão das Proteínas Exógenas.

Os níveis das proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1Ac, DMO e CP4 EPSPS foram determinados em tecidos da Soja Combinada 1 produzidos em experimentos de campo no Brasil na safra 2014/2015 (Chinnadurai, 2015). O plantio foi realizado em quatro repetições seis locais usando o desenho de blocos completos ao acaso. Os locais estudados foram: Cachoeira Dourada, MG (MGCH); Não-Me-Toque, RS (RSNM); Sorriso, MT (MTSO); Rolândia, PR (PRRO); Luís Eduardo Magalhães, BA (BALM); Santa Cruz das Palmeiras, SP (SPSD). As amostras de tecidos foram coletadas e analisadas para as proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1Ac, DMO e CP4 EPSPS usando métodos ELISA validados. Os níveis das proteínas em folhas durante a safra/OSL (OSL1-OSL4), forragem e grãos foram calculados na base de nanograma por mililitro (ng/ml) e convertidos para microgramas por grama ($\mu\text{g/g}$) de massa fresca (ms).

O conteúdo de umidade foi medido em todos os tecidos e utilizado para converter os valores em $\mu\text{g/g ms}$ para $\mu\text{g/g}$ de massa seca (ms), usando o fator de conversão DWCF. As amostras analisadas para cada local foram colhidas nas folhas em quatro estágios de desenvolvimento, na forragem e nos grãos. A Soja Combinada 1 contém os quatro insertos dos eventos MON 87701, MON 89788, MON 87708 e MON 87751, sendo que as análises moleculares confirmaram que não existem rearranjos desses insertos que sejam detectáveis. O potencial de interação entre as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 foi avaliado em bioensaios com insetos, sendo estes realizados com duas espécies de pragas suscetíveis às proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, a broca europeia do milho (ECB, *Ostrinia nubilalis*; Lepidoptera: Crambidae) e a lagarta da espiga (CEW, *Helicoverpa zea*; Lepidoptera: Noctuidae) (U.S. EPA, 2010a). 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 (U.S. EPA, 2010a). A demonstração da ausência de interação entre essas proteínas (ou seja, demonstração que elas atuam de maneira aditiva) utilizando espécies sensíveis permite que cada uma das proteínas seja testada independentemente nos estudos de avaliação de segurança. O princípio da avaliação independente tem sido usado por muitos anos em avaliações de risco de produtos microbianos (U.S. EPA, 2004). A ausência de sinergismo permite a aplicação do princípio de avaliação independente, o qual possui um longo histórico de uso em toxicologia. 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, do inglês No Observable Adverse Effect Levels), sua toxicidade pode ser avaliada de maneira independente (U.S. EPA, 2009). A análise demonstrou que essas proteínas têm uma atividade inseticida aditiva e que efeitos sinérgicos ou antagonísticos não foram observados. Os resultados desse

estudo foram consistentes com os resultados de um estudo anterior que demonstrou que não existe interação entre as proteínas Cry1Ac e Cry2Ab2 (Greenplate et al., 2003). Outros estudos mostraram a ausência de interação entre as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, assim como com outras proteínas Cry (Levine et al., 2008; MacRae et al., 2006; MacRae et al., 2005).

Em um estudo com o intuito de se verificar o potencial de interação entre as proteínas inseticidas Cry1Ac, Cry1A.105 e Cry2Ab2 presentes na Soja Combinada 1, lagartas de *Helicoverpa zea* foram submetidas a uma avaliação do efeito aditivo proveniente da combinação da soja MON 87701 com a soja MON 87751 com base no modelo de adição de concentração (Fridley, 2015). *H. zea* é uma espécie apropriada para esta avaliação de interação, pois espécies do gênero Lepidoptera são conhecidas por sua alta sensibilidade a proteínas das classes Cry1 e Cry2 encontradas nas sojas MON 87701 e MON 87751 (U.S. EPA, 2006; U.S. EPA, 2010b). Assim, as lagartas foram submetidas a bioensaios para análise de inibição de crescimento, onde elas foram alimentadas durante sete dias com uma dieta contendo diferentes concentrações de tecido foliar, provenientes das seguintes fontes: soja MON 87701, soja MON 87751, soja MON 87751 × MON 87708 × MON 87701 × MON 89788 (Soja Combinada 1, objeto do presente requerimento), soja MON 87751 × MON 87701 × MON 89788 (Soja Combinada 2, que não é objeto deste requerimento) e soja controle convencional. Nesse estudo, cada um dos eventos individuais que expressam as proteínas Cry (soja MON 87701 e soja MON 87751) foi também considerado um material controle. As plantas de cada material, teste ou controle, foram mantidas em câmara de crescimento sob condições adequadas. O valor de GI50 (definido como a concentração que resulta em 50% de inibição do crescimento na comparação com o controle) foi selecionado como o parâmetro final de avaliação, dado que consiste no parâmetro de maior confiança estatística que pode ser estimado a partir de uma curva concentração-resposta (Newman, 2013). Os resultados deste estudo permitem concluir que não há interação entre as proteínas expressas na soja MON 87701 (Cry1Ac) ou na soja MON 87751 (Cry1A.105 e Cry2Ab2) na Soja Combinada 1 e na Soja Combinada 2.

As proteínas DMO e CP4 EPSPS são direcionadas para o cloroplasto na Soja Combinada 1, mas os substratos para cada uma são específicos. Estruturalmente, o dicamba é muito diferente do glifosato e do PEP, e não existem sítios de ligação em comum entre as duas proteínas para esses substratos. Além disso, as vias nas quais as proteínas DMO e CP4 EPSPS funcionam na Soja Combinada 1 são significativamente diferentes. Resultados de composição também indicaram que não há qualquer efeito sinérgico ou antagonístico entre as proteínas DMO e CP4 EPSPS na Soja Combinada 1, o que poderia levar à produção de metabólitos que não seriam produzidos na soja convencional. Assim, não existem mecanismos conhecidos de interação entre essas proteínas que poderiam levar a efeitos adversos em humanos ou animais, nem mesmo ao meio ambiente.

Até o momento não existem exemplos de efeitos interativos entre as proteínas Cry com atividade inseticida e as proteínas CP4 EPSPS e DMO que conferem tolerância a herbicidas a base de glifosato e dicamba, respectivamente. A ausência de interação entre essas proteínas de naturezas muito diferentes e específicas é evidenciada pelo conhecimento disponível sobre a segurança de todas elas, pelos modos de ação bem descritos e distintos, pelos baixos níveis de expressão dessas proteínas na planta e pelos seus históricos de uso e exposição seguros. Os níveis de expressão das proteínas em diversos tecidos dos eventos individuais são comparáveis aos níveis de

expressão dessas mesmas proteínas em tecidos da Soja Combinada 1. Esses são dados que mostram que os genes cry1Ac, cry1A.105, cry2Ab2, cp4 epsps e dmo não interagem entre si na Soja Combinada 1, uma vez que os níveis de expressão encontrados nos eventos individuais e na Soja Combinada 1 são comparáveis. Por todos os aspectos apresentados acima, as proteínas Cry1Ac, Cry1A.105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS e DMO presentes na Soja Combinada 1 podem ser avaliadas de maneira independente, e os estudos de cada uma nos eventos individuais são válidos para demonstrar a segurança dessas proteínas nesse produto combinado por melhoramento genético clássico. Esse princípio de avaliação independente tem sido usado por muitos anos para as avaliações de risco microbiano pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. EPA, 2004).

3.4. Características reprodutivas, agronômicas e fenotípicas da Soja Combinada 1.

Na Safra 2014/2015 foram realizados experimentos em campo com os eventos da soja combinada 1 e comparando com os materiais convencionais. Os experimentos foram realizados nos seguintes locais, com 4 repetições no delineamento em blocos casualizados: Cachoeira Dourada, MG (MGCH); Não-Me-Toque, RS (RSNM); Sorriso, MT (MTSO); Rolândia, PR (PRRO); Luís Eduardo Magalhães, BA (BALM); Santa Cruz das Palmeiras, SP (SPSD).

O teste de vigor foi conduzido conforme procedimento ISTA (International Seed Testing Association) e o teste de germinação foi conduzido conforme procedimento interno da Empresa. Os resultados deste estudo mostraram que em alguns locais o vigor e germinação da soja combinada 1 foi inferior a soja convencional e em outros superior, revelando a interação fenotípica do genótipo com o meio ambiente. Portanto os resultados indicam que a Soja Combinada 1 não difere consistentemente da soja controle convencional quanto à germinação e vigor dos grãos recém-colhidos. Dessa forma, conclui-se que as poucas variações em germinação e vigor encontradas são naturais e não influenciadas pela presença das proteínas Cry1Ac, Cry1A.105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS e DMO expressas na Soja Combinada 1.

Plantas cultivadas de soja são anuais e se reproduzem somente por sementes. Sementes maduras de soja não apresentam dormência (TeKrony et al., 1987), são sensíveis ao frio (Raper e Kramer, 1987) e não são aptas a sobreviver de uma safra a outra se forem deixadas no campo durante inverno de frio intenso (Berglund, 2008). Devido à ausência da característica de dormência, as sementes de soja podem germinar rapidamente sob temperatura e umidade adequadas, podendo potencialmente crescer como plantas voluntárias. Entretanto, essas plantas espontâneas apresentam pouca tolerância às variações ambientais, ficando sujeitas a serem mortas pelo frio, por geadas ou pela seca (como no caso do Brasil) durante o outono ou inverno do ano em que foram produzidas. 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).

Plantas de Glycine soja são encontradas naturalmente na China, em Taiwan, no Japão, na Coreia e na Rússia. Híbridagens naturais entre a soja cultivada e *G. soja* ocorrem e alguns tipos semi-silvestres intermediários às espécies *G. max* e *G. soja* são encontrados, como a *G. gracilis*. A espécie *G. soja* não é nativa do Brasil, podendo ser encontrada apenas em poucas parcelas experimentais no banco ativo de

germoplasma da Embrapa Soja e de algumas outras instituições de pesquisa. Não existem evidências que G. soja escapou ou se dispersou de áreas experimentais, tornando-se uma planta daninha. G. soja nunca foi encontrada como planta daninha ou estabelecida naturalmente no Brasil (Hymowitz et al., 1992). Adicionalmente, a soja cultivada, *Glycine max* (L.) Merrill, nunca foi encontrada na forma silvestre (Borém, 1999).

As avaliações de estresses abióticos foram realizadas em quatro tempos distintos durante a condução do estudo. Os estresses avaliados foram calor/escaldadura, deficiência de nutrientes, excesso de chuva, seca, solo compactado e vento. Dezesesseis comparações foram realizadas para as avaliações e as intensidades de estresses observadas na Soja Combinada 1 e os resultados obtidos estão dentro do intervalo da soja controle convencional e/ou referências comerciais.

A avaliação de injúrias ocasionadas por artrópodes foi realizada em diferentes momentos de acordo com o artrópode previamente definido como causador de injúria. Para injúrias causadas por coleópteros, as avaliações ocorreram em 14-21 dias após o plantio (DAP) e em R1. Para injúrias causadas por hemípteros, a avaliação ocorreu em R7/R8. Para injúrias causadas por mosca branca e ácaros, a avaliação ocorreu em R5/R6.

Trinta comparações foram realizadas entre a Soja Combinada 1 e a soja controle convencional, das quais apenas cinco apresentaram diferenças significativas. Em PRRO, a injúria foliar causada por ácaros na Soja Combinada 1 foi significativamente inferior em relação à soja controle convencional (0,1 vs. 0,8 escala 0-5), apresentando-se fora do intervalo das referências comerciais. Em SPSD, a injúria foliar ocasionada por ácaros na Soja Combinada 1 foi significativamente inferior em relação à soja controle convencional (0,0 vs. 0,8 escala 0-5), apresentando-se dentro do intervalo das referências comerciais. Em MGCH, a injúria foliar ocasionada por vaquinhas aos 14-21 DAP na Soja Combinada 1 foi significativamente inferior em relação à soja controle convencional (0,2 vs. 0,6 escala 0-5), apresentando-se dentro do intervalo das referências comerciais. Em MTSO, a injúria foliar ocasionada por vaquinhas aos 14-21 DAP na Soja Combinada 1 foi significativamente inferior em relação à soja controle convencional (0,3 vs. 0,5 escala 0-5), apresentando-se fora do intervalo das referências comerciais. Ainda em MTSO, a injúria nas vagens ocasionada por percevejos na Soja Combinada 1 foi significativamente inferior em relação à soja controle convencional (2,7 vs. 7,2 %), apresentando-se dentro do intervalo das referências comerciais.

II – AVALIAÇÃO DE RISCO À SAÚDE HUMANA E ANIMAL

1. Avaliação de Risco a Saúde Humana e Animal.

De acordo com premissas internacionais definidas pelo Codex Alimentarius, a avaliação de plantas destinadas a alimentação humana e animal deve ser feita com base (1) na análise da composição centesimal do OGM, comparando-a com a parental não geneticamente modificada, e (2) com base na análise toxicológica da(s) proteína(s) expressa(s) e (3) de seu eventual potencial alergênico.

2. A soja na alimentação humana e animal

A soja é usada em vários produtos alimentícios, como tofu, molho de soja, leite de soja, carne, e principalmente, óleos. O farelo de soja é usado como alimento animal.

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, isoflavonas, 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.

3. Composição centesimal da Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788 e equivalência substancial com a soja convencional

Foi realizada a análise da composição centesimal de cinzas, gorduras, proteínas e carboidratos em forragens e grãos da soja combinada, e esta mostrou-se comparável à soja convencional, não impactando na segurança alimentar.

A composição centesimal de grãos e forragem foi obtida de amostras da Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788 produzida em experimentos de campo no Brasil na safra de 2014/2015 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). A composição centesimal da Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788 foi determinada e comparada à soja controle convencional de background genético similar e 12 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). Foi realizada a análise da porcentagem das proteínas na constituição da soja GM, sendo: Cry1Ac, 0,0012%, CryA.105, 0,0006%, Cry2Ab2, 0,001%, CP4 EPSPS, 0,04%, e DMO, 0,0056%. Os dados mostram que a média e a amplitude de valores de composição centesimal obtidos para forragem e grãos da Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788 foram todas similares à média e ao intervalo de valores obtidos para a soja controle convencional, para as variedades de soja comerciais e encontrados no ILSI-CCDB (ILSI, 2010). Portanto conclui-se que a Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788 tem composição equivalente à soja controle convencional, o que tem uma implicação importante para a segurança alimentar deste produto que expressa as proteínas Cry1Ac, Cry1A.105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS e DMO. Os resultados das avaliações em amostras de forragens e grãos coletadas no Brasil foram apresentados nas Tabelas VII-1 e VII-2 do processo em análise.

4. Avaliação de toxicidade dos produtos de expressão na Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788

Existe um grande volume de informações acumuladas nos últimos anos sobre a segurança alimentar dos organismos doadores dos genes *Cry1Ac*, *cry1A.105* e *cry2Ab2* e *cp4 epsps*, *Bacillus thuringiensis* e *Agrobacterium* sp cepa CP4. Além disto, esses dois microrganismos são amplamente encontrados na natureza e a exposição humana e animal a eles não tem potencial de causar efeitos adversos. Culturas tolerantes ao glifosato, que produzem a proteína CP4 EPSPS, ou que contêm

as proteínas da família Cry já vem sendo cultivadas e consumidas pela população humana e por animais há quase duas décadas, sem relatos de efeitos adversos por toxicidade. Além disto, as proteínas não apresentam similaridade por bioinformática com compostos alergênicos ou proteínas tóxicas para os seres humanos ou animais conhecidas. Foram realizados estudos de toxicidade oral aguda em animais de laboratório com as proteínas Cry1Ac (recombinante de *E.coli*), CryA.105 (do milho) e/ou Cry2Ab2 (do milho) e CP4 EPSPS (recombinante de *E.coli*) que não apresentaram efeito adverso nem nas doses mais elevadas. As proteínas são rapidamente digeridas pelo suco gástrico, pois em condições drásticas de pH perdem mais de 95% da atividade em 15 segundos de incubação. As proteínas também perdem atividade por tratamento com calor – condição usado no cozimento dos alimentos.

A requerente reapresentou informações anteriormente apresentadas sobre a toxicidade de cada uma das proteínas quando da análise dos eventos individuais contidos na Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788. As proteínas Cry1Ac, Cry1A.105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS e DMO foram avaliadas quanto ao seu potencial de toxicidade a humanos e animais de acordo com recomendações internacionais (Codex, 2003; Codex 2009). Essas proteínas têm históricos de uso seguro, não possuem similaridade estrutural com toxinas conhecidas ou proteínas biologicamente ativas que causam efeitos em mamíferos, não causam toxicidade oral aguda em camundongos, e constituem uma porção muito pequena da proteína total presente em ração e alimentos derivados da Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788. Nos estudos com animais de laboratório, o NOAEL para a proteína Cry1A.105 foi de 2.072 mg/kg de massa corporal, a dose mais alta testada. Para a proteína Cry2Ab2 o NOAEL foi de 2.198 mg/kg de massa corporal, a dose mais alta testada. Para a proteína CP4 EPSPS o NOAEL do estudo com camundongos foi de 572 mg/kg de massa corporal, a dose mais alta testada. Para a proteína DMO o NOEL foi de 140 mg/kg de massa corporal, a dose mais alta testada. Para a proteína Cry1Ac o NOAEL foi 1.292 mg/kg de massa corporal, a dose mais alta testada. Esses dados, considerados em conjunto, permitiram à requerente concluir que é bastante improvável e inesperado que as proteínas Cry1Ac, Cry1A.105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS e DMO causem qualquer efeito tóxico em humanos e animais.

5. Avaliação de alergenicidade dos produtos de expressão na Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788

A requerente reapresentou informações (já anteriormente apresentadas) sobre a alergenicidade de cada uma das proteínas quando da análise dos eventos individuais contidos na Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788. As proteínas Cry1Ac, Cry1A.105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS e DMO foram avaliadas quanto ao seu potencial de alergenicidade a humanos e animais de acordo com recomendações internacionais (Codex Alimentarius, 2003; Codex Alimentarius, 2009). Como mencionado anteriormente, essas proteínas não são oriundas de fontes alergênicas, não possuem similaridade com alérgenos conhecidos, são rapidamente digeridas em fluidos digestivos simulados (gástrico e intestinal), são rapidamente desnaturadas em altas temperaturas e constituem porções muito pequenas da proteína total presente nos grãos da Soja MON87751 x MON87708 x MON87701 x MON89788. Esses dados, considerados em conjunto, permitiram à requerente concluir que é bastante improvável e inesperado que as proteínas Cry1Ac,

Cry1A.105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS e DMO causem qualquer efeito alergênico em humanos e animais.

III – AVALIAÇÃO DE RISCO AO MEIO AMBIENTE

1. Avaliação de Risco ao Meio Ambiente.

No Brasil não existe nenhuma espécie nativa, silvestre ou feral que possa entrecruzar com *Glycine max*. As únicas espécies selvagens que podem cruzar naturalmente com a soja cultivada são do gênero *Glycine*, porém elas não ocorrem naturalmente no Brasil. Não há também nenhum centro de diversidade genética ou centro de origem da soja no Brasil. A espécie *G. soja* não é nativa do Brasil e é encontrada apenas em poucas parcelas experimentais no banco ativo de germoplasma da Embrapa Soja e de algumas outras instituições de pesquisa. Não existem evidências que *G. soja* escapou ou se dispersou de áreas experimentais, tornando-se uma invasora. Adicionalmente, a soja cultivada, *Glycine max* (L.) Merrill, nunca foi encontrada no ambiente como uma forma selvagem (Borém, 1999).

Ainda que a soja seja uma espécie autopolinizada, baixos níveis de polinização cruzada natural podem ocorrer (0 a 6,3%) (Caviness, 1966; Yoshimura et al., 2006). As frequências de polinização cruzada podem variar de acordo com a época de crescimento e genótipos envolvidos, sendo que a maioria dos cruzamentos ocorre entre plantas espacialmente mais próximas, localizadas no entorno da fonte de pólen. A atividade de insetos é outro fator que pode aumentar a taxa de cruzamentos, embora, normalmente, a soja não seja uma planta preferida pelos polinizadores (Abrams et al., 1978).

Estudos realizados em laboratório com as proteínas Cry1Ac, Cry1A.105 e Cry2Ab2 embarcadas em eventos simples ou combinados mostraram a eficiência dessas proteínas Bt no controle das seguintes espécies de pragas alvo: *Anticarsia gemmatilis*, *Chrysodeixis includens*, *Heliothis virescens*, *Crociosema aporema*, *Elasmopalpus lignosellus*, *Helicoverpa zea*, *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera cosmioides* e *Spodoptera eridania*. Assim, além de possuir um maior espectro de pragas alvo, a Soja Combinada 1 possui maior valor do ponto de vista de manejo da resistência de insetos, por conter mais modos de ação contra a mesma praga alvo.

A incidência de espécies de lepidópteros responsáveis por danos de desfolha na cultura da soja foi significativa em cinco das seis localidades em que o estudo foi conduzido: PRRO, RSNM, SPSD, MTSO e BALM. Dentre as espécies responsáveis por este tipo de dano, as principais lagartas encontradas durante as avaliações de pano de batida foram da subfamília Plusiinae, que compreendem as espécies falsas medeiras *Chrysodeixis includens* Walker, *Rachiplusia nu* Guenée, e *Trichoplusia ni* Hubner (Moscardi et al., 2013). Essas espécies são comumente encontradas nos locais de cultivo de soja, sendo as principais espécies desfolhadoras mais comumente associadas a essa cultura no Brasil. Elas costumam atacar as lavouras a partir de novembro, nas regiões ao norte do Paraná, e de dezembro a janeiro no sul do Brasil, podendo desfolhar completamente as plantas de soja quando em altas infestações (Hoffmann-Campo et al., 2000). Baixas incidências de espécies responsáveis por danificar vagens foram observadas nas localidades onde os estudos foram conduzidos. Todos os tratamentos de soja Bt reduziram os danos em vagens a zero.

Não foram encontrados valores significativos do número de lagartas em nenhuma localidade.

A biodegradabilidade da Soja Combinada 1 foi avaliada em estudo realizado no Brasil. A proposta deste estudo foi obter informações sobre degradação de restos culturais de plantas coletadas após maturação fisiológica. As amostras de restos culturais foram coletadas em cinco áreas aonde se conduziu o estudo para caracterização agrônômica e fenotípica: Cachoeira Dourada, MG (MGCH); Não-Me-Toque, RS (RSNM); Rolândia, PR (PRRO); Luís Eduardo Magalhães, BA (BALM); Santa Cruz das Palmeiras, SP (SPSD). Amostras de plantas em maturidade fisiológica R8 foram coletadas para o estudo e enviadas para o Laboratório em Santa Cruz das Palmeiras, SP (SCP), onde foram trituradas, misturadas com solo e incubadas sob condições controladas de casa de vegetação. O experimento foi conduzido durante o período de maio a agosto de 2015. Nove repetições de cada tratamento da mistura de solo com biomassa foram umedecidas, mantidas em casa de vegetação e avaliadas aos 30, 60 e 90 dias após incubação. Três repetições de cada substância foram avaliadas em cada tempo determinado. O processo de avaliação consistiu em secar as amostras em estufa de ventilação forçada por 72 h a 60° C ou até peso constante. A diferença de peso entre a amostra incubada e a amostra recolhida após o prazo determinado foi considerada como degradada. Um fator de correção para umidade da amostra e umidade do solo presentes no momento da incubação foi utilizado a fim de se estabelecer uma base de comparação.

Os dados obtidos de porcentagem de degradação de biomassa em três diferentes tempos de coletas da Soja Combinada 1 foram comparados aos resultados obtidos nas parcelas com a soja controle convencional e ao intervalo de valores de degradação das referências comerciais em comparações individuais por local e combinada dos locais. Os dados coletados foram submetidos a análise estatística por meio do teste t para a comparação das médias das substâncias teste em relação à substância controle, ao nível de significância de 5%. Na análise combinada do grupo de maturação 8 (GM8), diferenças significativas não foram observadas entre a Soja Combinada 1 e a soja controle convencional quanto ao percentual de degradação de restos culturais.

Os dados indicam que a Soja Combinada 1 não difere consistentemente da soja controle convencional quanto à taxa de degradação dos restos culturais. Dessa forma, conclui-se que as variações no percentual de degradação de biomassa são naturais e não influenciadas pela presença das proteínas Cry1Ac, Cry1A.105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS e DMO expressas na Soja Combinada 1.

5. Restrições ao uso do OGM e seus derivados

Conforme estabelecido no art. 1º da Lei 11.460, de 21 de março de 2007, “ficam vedados a pesquisa e o cultivo de organismos geneticamente modificados nas terras indígenas e áreas de unidades de conservação”.

6. Monitoramento

Com relação ao plano de monitoramento pós-liberação comercial a CTNBio determina que sejam seguidas as instruções e executadas as ações técnicas de monitoramento constante na Resolução Normativa 09 da CTNBio de 02 de dezembro de 2011.

7. PARECER

Considerando-se que soja MON 87751 x MON 87708 x MON87701 x MON 89788, denominada Soja Combinada I pertence a uma espécie bem caracterizada a qual apresenta segurança para o consumo humano;

Considerando-se que as proteínas Cry1Ac, Cry1A.105 e Cry2Ab2 que conferem resistência a insetos e as proteínas CP4 EPSPS e DMO que conferem tolerância aos herbicidas glifosato e dicamba, respectivamente, são expressas em vários eventos de diferentes culturas agrícolas já submetidos à avaliação de risco e aprovadas para uso comercial, as conclusões sobre a segurança biológica da presente transformação genética (evento) levaram em consideração a biologia da cultura, as características genéticas introduzidas, o ambiente receptor, a familiaridade com a cultura nas diversas áreas do Brasil com aptidão para o plantio de soja, a literatura disponível e a integração entre estes fatores que fundamenta a avaliação de risco comparativa.

Considerou-se ainda, o espectro de atividade proteica, os baixos níveis de expressão das proteínas no grão de soja, ausência de interação entre as vias bioquímicas das proteínas e a ausência de atividade adversa em organismos indicadores representativos.

Face ao acima exposto, concluímos que o evento Soja MON 87751 x MON 87708 x MON87701 x MON 89788, denominada Soja Combinada I não apresenta riscos distintos da soja convencional ao meio ambiente. Somos, assim, de parecer favorável à liberação comercial deste produto para os fins solicitados pelo requerente. Este parecer levou em consideração os documentos apresentados pela proponente e a literatura científica disponível.

8. BIBLIOGRAFIA

Arackal, S.M., Lawry, K.R., Song, Z., Groat, J.R., Rice, J.F., Masucci, J.D. e Tian, Q. 2010. Amended Report for MSL0022327: Amended Report for MSL0022176: Molecular Analysis of Insect-Protected Soybean MON87701. Monsanto Technical Report MSL0022652. St. Louis, MO.

ASA. 2016. SoyStats 2016. American Soybean Association, St. Louis, Missouri.

Bartholomaeus, A., Batista, J.C., Burachik, M. e Parrott, W. 2015. Recommendations from the workshop on Comparative Approaches to Safety Assessment of GM Plant Materials: A road toward harmonized criteria? *GM Crops & Food* 6: 69-79.

Baum, J.A., Johnson, T.B. e Carlton, B.C. 1999. *Bacillus thuringiensis*. Natural and recombinant bioinsecticide products. In: Hall, F. R. e Menn, J. J., editors, *Methods in Biotechnology. Pesticides: Use and Delivery*. Humana Press, Inc., Totowa, New Jersey. p. Pp 189-209.

Berglund, D.R. 2008. Assessing the frost damage in soybean.

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. doi:10.1006/rtp.2000.1426.

Borém, A. 1999. Escape Gênico. Os riscos do escape gênico da soja no Brasil. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Ano 2 (10): p.101-107 - Encarte Especial. Set-Out/1999.

Brevault, T., Prudent, P., Vaissayre, M. e Carriere, Y. 2009. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to Cry1ac and Cry2ab2 insecticidal proteins in four countries of the West African Cotton Belt. *Journal of Economic Entomology* 102(6): 2301-2309.

Chen, H., Nemali, A.D., Lawry, K.R., Zhang, Z. e Malven, M. 2014. Sequence Analysis of the MON87751, MON87701, MON87708, MON89788 Inserts in the Combined Trait Product MON87751 × MON87701 × MON87708 × MON89788. Monsanto Company, St. Louis, Missouri.

Chinnadurai, P. 2015. Assessment of Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1Ac, DMO and CP4 EPSPS Protein Levels in Soybean Tissues Collected from MON 87751 × MON 87701 × MON 89788, MON 87751 × MON 87701 × MON 87708 × MON 89788, MON 87751, MON 87701, MON 87708 and MON 89788 Produced in Brazilian Field Trials During 2014 /2015 growing season. Monsanto Technical Report. Monsanto Company. p. 51.

Chinnadurai, P. 2015. Assessment of Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1Ac, DMO and CP4 EPSPS Protein Levels in Soybean Tissues Collected from MON87751 × MON87701 × MON89788, MON87751 × MON87701 × MON87708 × MON89788, MON87751, MON87701, MON87708 and MON89788 Produced in Brazilian Field Trials During 2014 /2015 growing season. Monsanto Technical Report. Monsanto Company. p. 51.

CLI. 2015. Position Paper: Regulation of Plant Biotechnology-Derived Breeding Stacks. CropLife International, Brussels, Belgium.

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.

Domingo, J.L. 2016. Safety assessment of GM plants: An updated review of the scientific literature. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 95, pp. 12-18.

EFSA. 2007. Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events *The EFSA Journal* 512: 1-5.

EFSA. 2011. Scientific opinion: Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. *EFSA Journal* 9: 2150. doi:10.2903/j.efsa.2011.2150.

Garnaat, C., Lawry, K.R., Nemali, A.D., Robinson, K.A., Arackal, S.M., Skottke, K., Silvanovich, A., Yan, Y. e Kovalic, D. 2014. Amended Report for MSL0025312: Molecular Characterization of Insect Protected Soybean (MON87751). Monsanto Technical Report MSL0025901. St. Louis, MO.

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.

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.

<http://www.ag.ndsu.edu/disaster/winterstorm/frostsoybeans.html>.

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.

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., 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.

ILSI. 2010. *Crop Composition Database, Version 4.1*. International Life Sciences Institute, Washington, D.C. <http://www.cropcomposition.org/>. Acessado 15 de março de 2013.

Jones, D.D. e Maryanski, J.H. 1991. Safety considerations in the evaluation of transgenic plants for human food. In: Levin, M. A. e Strauss, H. S., editors, *Risk Assessment in Genetic Engineering*. McGraw Hill, New York, New York. p. 64-82.

Kok, E.J., Pedersen, J., Onori, R., Sowa, S., Schauzu, M., Schrijver, A.D. e Teeri, T.H. 2014. Plants with stacked genetically modified events: to assess or not to assess? *Cell Press* 32: 70-73.

Levine, S.L., Mueller, G.M. e Jiang, C. 2008. Evaluation of the Potential for Interactions among Cry Proteins Produced by MON 89034 × TC1507 × MON 88017 × DAS-59122-7 by Insect Bioassay. Monsanto Company.

Levine, S.L., Mueller, G.M. e Jiang, C. 2008. Evaluation of the Potential for Interactions among Cry Proteins Produced by MON89034 × TC1507 × MON88017 × DAS-59122-7 by Insect Bioassay. Monsanto Company.

Lu, B.-R. 2004. Conserving biodiversity of soybean gene pool in the biotechnology era. *Plant Species Biology*. 19: 115-125.

MacRae, T., Brown, C. e Levine, S. 2006. Evaluation of potential for interactions between the *Bacillus thuringiensis* proteins Cry1A.105, Cry2Ab2, and Cry3Bb1. Monsanto Technical Report MSL 20270.

MacRae, T., Brown, C. e Levine, S. 2006. Evaluation of potential for interactions between the *Bacillus thuringiensis* proteins Cry1A.105, Cry2Ab2, and Cry3Bb1. Monsanto Technical Report MSL 20270.

- MacRae, T.C., Brown, C.R. e Levine, S.L. 2005. Evaluation of the Potential for Interactions Between the *Bacillus thuringiensis* Proteins Cry1A.105 and Cry2Ab2. Monsanto Technical Report MSL 19859.
- MacRae, T.C., Brown, C.R. e Levine, S.L. 2005. Evaluation of the Potential for Interactions Between the *Bacillus thuringiensis* Proteins Cry1A.105 and Cry2Ab2. Monsanto Technical Report MSL 19859.
- McClintock, J.T., Schaffer, C.R. e Sjobald, R.D. 1995. A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides. *Pesticide Science* 45: 95-105.
- Mendelsohn, M., Kough, J., Vaituzis, Z. e Matthews, K. 2003. Are Bt crops safe? *Nature Biotechnology* 21: 1003-1009.
- Miyasaka, S. e Medina, J.C. 1977. A soja no Brasil. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL. 1062p.
- Newman, M.C. 2013. Lethal and other quantal responses to stress. 2 ed. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- 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.
- Pariza, M.W. e Foster, E.M. 1983. Determining the safety of enzymes used in food processing. *Journal of Food Protection* 46: 453-468.
- Pilacinski W., Crawford A., Downey R., Harvey B., Huber S., Hunst P., Lahman L.K. et al (2011) Plants with genetically modified events combined by conventional breeding: An assessment of the need to additional regulatory data. *Food Chem. Toxicol.* Vol. 49, pp. 1–7.
- Raper, C.D. e Kramer, P.J. 1987. Stress physiology. In: Wilcox, J. R., editor *Soybeans: Improvement, Production and Uses*. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin. p. 589-641.
- Raybould, A. 2010. Reducing uncertainty in regulatory decision-making for transgenic crops. *GM Crops* 1: 1-7.
- Sjoblad, R.D., McClintock, J.T. e Engler, R. 1992. Toxicological considerations for protein components of biological pesticide products. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 15: 3-9.
- Snell, C., Bernheim, A., Bergé, J.-B., Kuntz, M., Pascal, G., Paris, A. e Ricroch, A.E. 2012. Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: A literature review. *Food and Chemical Toxicology* 50: 1134-1148. doi:10.1016/j.fct.2011.11.048.
- Song, Z., Lawry, K.D., Rice, J.F. e Tian, Q. 2009. Amended Report for MSL0021418: Molecular Analysis of Dicamba Tolerant Soybean MON87708. Monsanto Technical Report MSL0022109. St. Louis, MO.
- Song, Z., Lawry, K.R., Rice, J.F. e Tian, Q. 2011. Amended Report for MSL0022670: Molecular Analysis of Dicamba Tolerant Soybean MON87708. Monsanto Technical Report. Monsanto Company, St. Louis, MO, EUA.

Steiner H.-Y., Halpin C., Jez J.M., Kough J., Parrott W., Underhill L., Weber N. et al (2013) Editor's Choice: evaluating the potential for adverse interactions within genetically engineered breeding stacks. *Plant Physiology*. Vol. 161, pp. 1587–1594.

TeKrony, D.M., Egli, D.B. e White, G.M. 1987. Seed production and technology. In: Wilcox, J. R., editor *Soybeans: Improvement, Production and Uses*. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin. p. 295-353.

U.S. EPA. 2004. Overview of the ecological risk assessment process in the Office of Pesticide Programs. *Endangered and Threatened Species Effects Determinations*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

U.S. EPA. 2009. Position paper on scientific issues associated with the data required to register plant-incorporated protectants. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

U.S. EPA. 2010a. Biopesticides registration action document: *Bacillus thuringiensis* Cry1A.105 and Cry2Ab2 insecticidal proteins and the genetic material necessary for their production in corn [PC Codes 006515 (Cry2Ab2), 006514 (Cry1A.105)]. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, Biopesticides and Pollution Prevention Division, Washington, D.C.

U.S. EPA. 2010b. Biopesticide registration action document. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protein and the genetic material (Vector PV-GMIR9) necessary for its production in MON 87701 (OECD Unique Identifier: MON 877Ø1-2) soybean. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

Van Eenennaam, A.L. e Young, A.E. 2014. Prevalence and impacts of genetically engineered feedstuffs on livestock populations. *J ANIM SCI* 92: 4255-4278.

Weber, N., Halpin, C., Hannah, L.C., Jez, J.M., Kough, J. e Parrott, W. 2012. Editor's choice: Crop genome plasticity and its relevance to food and feed safety of genetically engineered breeding stacks. *Plant Physiology* 160: 1842-1853. doi:10.1104/pp.112.204271.

WHO. 1995. Application of the principles of substantial equivalence to the safety evaluation of foods or food components from plants derived by modern biotechnology. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Wolt, J., Keese, P., Raybould, A., Fitzpatrick, J., Burachik, M., Gray, A., Olin, S., Schiemann, J., Sears, M. e Wu, F. 2010. Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants. *Transgenic Research* 19: 425-436. doi:10.1007/s11248-009-9321-9.

Brasília, 8 de março de 2018.

EDIVALDO DOMINGUES VELINI
Presidente da CTNBio