PARECER TECNICO Nº 2.956/2011 - RETIFICADO

Processo nº: 01200.003606/2010-93
Requerente: Monsanto do Brasil Ltda
CNPJ: 64.858.525/0001-45
Endereço: Av. Nações Unidas, 12901, Torre Norte, 7º 8º e 9º Andares, 04578-910, São Paulo, SP
Extrato prévio: 2518/2010 publicado em 03/09/2010
Reunião: 143ª Reunião Ordinária, ocorrida em 16 de junho de 2011.
Decisão: Deferido

A CTNBio, após apreciação do pedido de parecer para a liberação comercial de algodão geneticamente modificado tolerante ao glifosato MON88913, bem como quaisquer outras atividades relacionadas a esse OGM e quaisquer progênies dele derivados, concluiu pelo seu DEFERIMENTO nos termos deste parecer técnico.

PARECER TECNICO

I. Identificação do OGM

Designação do OGM: algodão MON 88913
Requerente: Monsanto do Brasil Ltda
Espécie: *Gossypium hirsutum*
Características inseridas: tolerância ao herbicida glifosato
Método de introdução das características: transformação de plantas mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.
Uso proposto: liberação no meio ambiente, comercialização, consumo e quaisquer outras atividades relacionadas a esse OGM e seus derivados.

II. Informações Gerais

No Brasil, a cultura do algodão é bastante desenvolvida nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, que representam aproximadamente 61,4% da área plantada, sendo o Mato Grosso hoje o principal estado produtor de algodão em caroço com área de aproximadamente 420 mil ha e produção de aproximadamente 1.580 mil toneladas, segundo a estimativa de safra 2009/2010 da CONAB.

A primeira geração de algodão geneticamente modificado tolerante ao glifosato foi a variedade de algodão MON 1445 que tem sido amplamente utilizada por cotonicultores e se tornou uma parcela significativa da produção americana de algodão. O glifosato é usado como um herbicida não-seletivo em aplicações foliares e proporciona um controle mais efetivo das plantas daninhas durante a safra, com riscos reduzidos de danos às plantas, uma vez que é um herbicida altamente efetivo contra a maioria das plantas daninhas anuais e perenes que podem causar problemas durante os estágios mais tardios de desenvolvimento da cultura.

O algodão MON 88913 representa a segunda geração de algodão tolerante ao glifosato que apresenta maior tolerância ao glifosato durante as fases criticas de crescimento, quando comparado ao algodão MON 1445. Os níveis aumentados de tolerância ao glifosato no algodão MON 88913 foram alcançados pela utilização de seqüências promotoras melhoradas, que regulam a expressão das seqüências codificadoras do gene *cp4 epsps*, que codifica a expressão da proteína CP4 EPSPS, a qual confere a característica de tolerância ao glifosato.

No presente evento, a construção gênica do algodão MON 1445 contém seqüência alvo do cloroplasto, que permite a expressão do gene e a síntese da proteína *CP4 EPSPS* até estágio mais tardio do desenvolvimento da planta, aumentando a proteção da cultura à ação do herbicida.

A utilização do algodão MON 88913 possibilita a aplicação do glifosato sobre a cultura de algodão geneticamente modificado até estágios mais tardios de desenvolvimento das plantas, se comparado ao algodão MON 1445. Isso irá proporcionar um controle mais efetivo das plantas daninhas durante o cultivo, com riscos mínimos de danos à cultura do algodão. Assim, o algodão MON 88913 é uma tecnologia que possibilita este controle, pelo uso do glifosato até estágios mais tardios do desenvolvimento das plantas.

III. Descrição do OGM e proteína expressa

O algodão MON 88913 foi produzido utilizando sistema de transformação mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. A cepa ABI de *Agrobacterium*, que carrega o plasmídeo PV-GHGT35, foi co-cultivada com explantes de hipocótilo de mudas de algodão *in vitro*, os quais foram em seguida utilizados para produzir calos embriogênicos somáticos de algodão contendo a seqüência de T-DNA transferida. Os calos foram selecionados *in vitro* para as características de interesse pela incorporação de glifosato no meio de cultura. O algodão MON 88913 foi selecionado *in vitro* utilizando glifosato como agente seletivo no meio de cultura, enquanto que o algodão MON 1445 foi selecionado *in vitro* utilizando o antibiótico canamicina como agente seletivo no meio de cultura. Os calos tolerantes ao glifosato geraram embriões somáticos que germinaram e se desenvolveram em plantas que foram, posteriormente, testadas em câmaras de crescimento, estufas e experimento de campo, até a definição do evento líder que seria regulamentado. O algodão MON 88913 (evento MON 88913) é procedente de uma única célula transformada por *Agrobacterium* que foi posteriormente regenerada em planta e selecionada para a característica de interesse (tolerância ao glifosato). O plasmídeo PV-GHGT35 é um vetor de transformação derivado de *Agrobacterium tumefaciens*, desarmado e binário, de duas bordas que contém dois cassetes de expressão do gene *cp4 epsps* ligados, delineado pelas bordas direita e esquerda. Esse T-DNA de aproximadamente 8,2 kb contém dois cassetes de expressão do gene *cp4 epsps* ligados em série. Na região da borda direita, a seqüência codificadora *ctp2/cp4 epsps* no primeiro cassete de expressão gênica está sob a regulação do promotor transcricional P-FMV/TSF1, de uma seqüência líder L-TSF1 não traduzida (exon 1) do gene *tsf1* de *A. thaliana*, do íntron I-TSF1 não traduzido do gene *tsf1* de *A. thaliana*, de uma seqüência do peptídeo de trânsito de cloroplasto (TS-ctp2) e de uma seqüência de poliadenilação T-E9 da extremidade 3' não traduzida do gene E9 da pequena subunidade da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase (rbc) de ervilha (*Pisum sativum*), para finalização da transcrição e poliadenilação do mRNA do gene cp4 epsps. A seqüência codificadora ctp2/*cp4 epsps* está ligada à seqüência T-E9 que é a borda 3' não traduzida do gene *E9*. Uma segunda seqüência codificadora do gene *cp4 epsps,* idêntica à primeira*,* é regulada por um promotor transcricional quimérico P-35S/act8, por uma seqüência líder L-act8 não traduzida do gene act8 de *A. thaliana* e o íntron I-act8 e a seqüência flanqueadora do exon do gene act8 de *A. thaliana* e de íntrons, e pelas mesmas seqüências alvo do cloroplasto e de poliadenilação que foram utilizadas no primeiro cassete de expressão do gene *cp4 epsps*. A seqüência codificadora ctp2/*cp4 epsps* está ligada à extremidade 3' da seqüência T de modo idêntico ao primeiro cassete de expressão do gene cp4 epsps, para finalização da transcrição e poliadenilação do mRNA do gene *cp4 epsps*. A seqüência codificadora do gene *cp4 epsps* utilizada para produzir o algodão MON 88913 é a mesma empregada na geração do algodão MON 1445, o qual foi aprovado pela CTNBio no Brasil (Parecer Técnico CTNBio nº.1598/2008). O inserto integrado no genoma do algodão com esses dois cassetes de expressão codifica a proteína CP4 EPSPS, que confere tolerância ao herbicida glifosato. O gene *cp4 epsps* introduzido do algodão MON 88913 é oriundo da bactéria comum de solo *Agrobacterium* sp. cepa CP4. Este gene *CP4 EPSPS* foi seqüenciado e codifica uma proteína EPSPS de 47,6 kDa, formada por um polipeptídeo de 455 aminoácidos, responsável pela característica de tolerância ao herbicida

glifosato no algodão MON 88913. Em plantas, a proteína EPSPS está localizada dentro nos cloroplastos. A proteína CP4 EPSPS presente no algodão MON 88913 é funcionalmente idêntica às proteínas EPSPS endógenas de plantas (inclusive de algodão), exceto pelo fato de que a CP4 EPSPS apresenta uma afinidade naturalmente reduzida para o glifosato. Em plantas convencionais, o glifosato se liga à proteína EPSPS endógena da planta, bloqueia a biossíntese do 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato e causa deficiências na produção de aminoácidos aromáticos essenciais e metabólitos secundários nas plantas. Nas plantas geneticamente modificadas com o gene cp4 epsps, os aminoácidos aromáticos e outros metabólitos necessários para o crescimento e desenvolvimento das plantas são obtidos pela ação contínua da proteína CP4 EPSPS tolerante ao glifosato.

A caracterização molecular do algodão MON 88913 foi realizada para determinar: (1) o número de inserções dos cassetes de expressão, (2) o número de cópias dos cassetes de expressão integrados, (3) se os cassetes de expressão estão intactos, (4) a presença ou ausência de seqüências estruturais do plasmídeo, (5) a estabilidade do DNA inserido durante o melhoramento clássico e (6) a organização do inserto no algodão MON 88913. As análises moleculares *(Southern Blot*, PCR e Seqüenciamento de DNA) realizadas para caracterizar o inserto de DNA no algodão MON 88913 mostraram que o algodão MON 88913 contém uma cópia do inserto único de DNA intacto e integrado em um único loco no genoma do algodão, que contém dois cassetes de expressão do gene *cp4 epsps* intactos com todos os elementos genéticos também intactos. Nenhum elemento adicional resultante da transformação com o plasmídeo PV-GHGT35, ligado ou não ao inserto, foi detectado. A estabilidade do inserto de DNA nas gerações subseqüentes foi demonstrada por *Southern blot* e o padrão de sinais único (*fingerprint*) se manteve em cinco gerações de cultivo, confirmando a estabilidade do inserto de DNA em múltiplas gerações. A segregação mendeliana do fenótipo tolerância ao glifosato no algodão MON 88913 em múltiplas gerações e famílias, confirmam a homozigose nas gerações R4 e R5 e a estabilidade da característica tolerância ao glifosato e corrobora as análises de estabilidade do inserto molecular e sua presença em um locus único. Nenhum efeito pleiotrópico foi observado no algodão MON 88913 durante os experimentos de campo realizados em diferentes países e também a partir do seu uso comercial. No Brasil, os ensaios de avaliação agronômica, realizados nas safras 2008/2009 e 2009/2010, não mostraram efeitos pleiotrópicos e epistáticos, sendo que as características agronômicas e fenotípicas do algodão MON 88913 não foram alteradas em função da modificação genética, quando comparado ao algodão convencional, exceto pela expressão da característica de tolerância ao glifosato, que foi o objetivo da transformação.

O produto da expressão dos genes *cp4 epsps* no genoma do algodão MON 88913 é a proteína CP4 EPSPS. A caracterização detalhada da proteína *CP4 EPSPS* produzida no algodão MON 88913 e *E. coli* incluíram estudos sobre identidade e função, equivalência, imunorreatividade, peso molecular e pureza. A proteína CP4 EPSPS presente no algodão MON 88913 é funcionalmente idêntica às proteínas EPSPS endógenas de plantas (inclusive algodão), exceto pelo fato de que a CP4 EPSPS apresenta uma afinidade naturalmente reduzida para o glifosato quando comparada à EPSPS endógena de plantas. A seqüência N-terminal determinada experimentalmente para a proteína CP4 EPSPS isolada do algodão MON 88913 confirmou a seqüência de aminoácidos esperada. Os dados da seqüência confirmam que a proteína de ~43 kDa isolada de caroço do algodão MON 88913 é a proteína CP4 EPSPS e que esta seqüência é consistente com a seqüência N-terminal da proteína CP4 EPSPS padrão de referência produzida em *E. coli*. A análise por *immunoblot* (imunorreatividade) foi realizada usando soro de cabra anti-CP4 EPSPS, produzido usando a proteína CP4 EPSPS produzida em *E. coli* como antígeno. A similaridade observada na mobilidade e na imunorreatividade das proteínas CP4 EPSPS produzidas na planta e em *E. coli* demonstrou que a proteína CP4 EPSPS produzida na planta é equivalente à proteína CP4 EPSPS padrão de referência produzida em *E. coli*. A proteína CP4 EPSPS produzida no algodão MON 88913

foi separada usando a técnica SDS-PAGE e concluiu-se que a CP4 EPSPS produzida no algodão MON 88913 tem o mesmo peso molecular que a CP4 EPSPS padrão de referência purificada de *E. coli*. Juntos, esses dados estabeleceram as propriedades fisicoquímicas da proteína CP4 EPSPS produzida no algodão MON 88913 e sua equivalência com a proteína CP4 EPSPS produzida em *E. coli* empregada nos estudos de segurança da proteína CP4 EPSPS. Os níveis de expressão da proteína CP4 EPSPS em vários tecidos do algodão MON 88913 foram avaliados por ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*). Para coleta das amostras de tecidos vegetais empregados nessa análise, o algodão MON 88913, o algodão controle e as referências comerciais foram plantados nos Estados Unidos (safra 2002) e no Brasil (safra 2008/2009).

Nos Estados Unidos foram determinados os níveis da proteína CP4 EPSPS em tecidos de folha jovem, folha durante a safra (OSL), raiz, grãos e pólen coletados em ensaios de campo em quatro locais. Os níveis da proteína CP4 EPSPS foram calculados para todos os tecidos amostrados, em µg/g de peso na base úmida (pbu). Os níveis de proteína CP4 EPSPS nesses tecidos foram convertidos por cálculo em peso na base seca (pbs). As médias dos níveis da proteína *CP4 EPSPS* (µg/g pbs) do algodão MON 88913 nos quatro locais em folha jovem, OSL-1, OSL-2, OSL-3, raiz e grãos, foram, respectivamente, 970, 1.400, 690, 630, 99 e 340 µg/g pbs, respectivamente. A média dos níveis da proteína CP4 EPSPS em pólen nos quatro locais de ensaio foi 4,0 µg/g pbu. Os níveis da proteína CP4 EPSPS em todos os tipos de tecido para o algodão controle foram menores que os limites de quantificação do ensaio (LOQ).

No Brasil, a análise de expressão da proteína CP4 EPSPS em grãos e folhas de algodão MON 88913 e algodão controle foram determinados a partir de amostras coletadas em Sorriso, MT (SOR) e Cachoeira Dourada, MG (CAD). Os níveis da proteína CP4 EPSPS de folhas grãos (OSL-1) foram determinados e calculados em µg/g de peso na base úmida (pbu). O conteúdo de umidade nos dois tecidos foi medido e os níveis da proteína CP4 EPSPS foram convertidos e relatados em peso na base seca (pbs). Os resultados dos níveis médios da proteína CP4 EPSPS em amostras de folhas e grãos do algodão MON 88913 em Sorriso/MT e Cachoeira Dourada/MG foram, respectivamente, 2.100 e 280 µg/g pbs, respectivamente. Os níveis da proteína CP4 EPSPS nas amostras de tecido do algodão controle convencional ficaram abaixo dos limites de quantificação (LOQ) e detecção (LOD) do ensaio para cada tipo de tecido, com exceção de uma amostra de folha de SOR. Os valores encontrados no Brasil ficaram dentro dos intervalos encontrados para os mesmos tecidos nos Estados Unidos. Esse nível de expressão da proteína no algodão MON 88913, aliado aos dados de eficácia e fitotoxicidade, mostram que a característica de tolerância ao glifosato está presente, e é expressa de maneira efetiva para o uso do glifosato em pós-emergência até estágios mais tardios do desenvolvimento do algodão MON 88913.

IV. Aspectos relacionados à saúde humana e animal

Do ponto de vista de avaliação da segurança alimentar do algodão MON 88913 e da proteína CP4 EPSPS nele expressa, diversos estudos foram apresentados no Relatório de Biossegurança Alimentar, os quais permitiram estabelecer conclusões sobre a segurança da proteína CP4 EPSPS e do algodão MON 88913, respectivamente.

Sobre a segurança alimentar do algodão MON 88913, dados sobre: o organismo doador do gene *cp4 epsps*, a similaridade da proteína CP4 EPSPS, o potencial de toxicidade e de alergenicidade da proteína CP4 EPSPS e a avaliação de segurança alimentar do algodão MON 88913 (presente na dieta, em alimentos e rações). Estudos sobre a composição química e nutricional do algodão MON 88913 também foram apresentados e serão discutidos. Todos estes diferentes aspectos foram avaliados quanto aos riscos para humanos e animais.

A segurança da proteína CP4 EPSPS foi avaliada quanto ao potencial de toxicidade para humanos e animais. A avaliação potencial de toxicidade da proteína CP4 EPSPS no algodão MON 88913 foi baseada na premissa de que uma proteína não é tóxica se: (a) possuir histórico de uso seguro, (b) não houver similaridade estrutural com toxinas conhecidas ou outras proteínas biologicamente ativas que podem causar efeitos adversos em humanos ou animais e (c) não exercer nenhum efeito tóxico agudo a mamíferos. A proteína CP4 EPSPS foi avaliada quanto ao seu potencial para toxicidade para humanos e animais de acordo com recomendações da *Codex Alimentarius Commission*. A segurança do organismo doador do gene *cp4 epsps* e a similaridade da proteína CP4 EPSPS com proteínas EPSPS de fontes alimentares foram avaliadas. O organismo doador do gene *cp4 epsps* (que codifica a proteína CP4 EPSPS) é a bactéria *Agrobacterium* sp. cepa CP4, que produz uma proteína EPSPS naturalmente tolerante ao glifosato. A proteína EPSPS exerce sua função na via do ácido chiquímico que é essencial para a biossíntese de aminoácidos aromáticos em plantas e microrganismos. A proteína CP4 EPSPS presente no algodão MON 88913 é similar às proteínas EPSPS consumidas em uma variedade de fontes alimentares e rações. A proteína CP4 EPSPS é homóloga às proteínas EPSPS nativas presentes em plantas, incluindo aquelas culturas utilizadas como alimento (por exemplo, soja e milho) e fontes alimentares fúngicas e microbianas como levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e *Bacillus subtilis*, todas com histórico de consumo seguro por humanos. As similaridades estruturais possíveis, compartilhadas entre a proteína CP4 EPSPS e proteínas do banco de dados (*ALLPEPTIDES*) e do banco de dados de toxinas (*TOXIN5*) foram avaliadas usando a ferramenta FASTA. Os resultados do alinhamento de seqüências pela ferramenta FASTA demonstraram uma ausência de similaridade estrutural relevante entre a proteína CP4 EPSPS e proteínas reconhecidamente tóxicas ou farmacologicamente ativas que sejam relevantes para a saúde humana ou animal. A segurança da proteína CP4 EPSPS também foi avaliada em estudos de toxicidade oral aguda realizado por gavagem em camundongos. Esses estudos demonstraram que esta proteína não apresenta toxicidade aguda e não causa nenhum efeito adverso, mesmo na dose mais alta do teste, que foi 572 mg/kg de peso corporal. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para peso corporal, peso corporal cumulativo ou consumo de alimentos entre os grupos controle e grupos tratados com a proteína CP4 EPSPS purificada. A proteína CP4 EPSPS representa não mais que 0,12% da proteína total no caroço de algodão MON 88913. Esses dados, considerados em conjunto, permitem concluir que é altamente improvável e inesperado que a proteína CP4 EPSPS cause qualquer efeito tóxico em humanos e animais. Avaliações farmacológicas não são pertinentes para a proteína CP4 EPSPS, pois o algodão MON 88913 não é um produto para uso farmacológico.

A avaliação do potencial alergênico da proteína CP4 EPSPS no algodão MON 88913 foi baseado nas premissas de que uma proteína não é alergênica a se: (a) possuir histórico de uso seguro, (b) não houver similaridade estrutural com alérgenos conhecidos com base na seqüência de aminoácidos, (c) for rapidamente digerida em fluido gástrico simulado e (d) representar apenas uma pequena porção da proteína total no grão (1). A proteína CP4 EPSPS foi avaliada seguindo as recomendações do guia para a avaliação do potencial de alergenicidade de novas proteínas do *Codex Alimentarius Commission.* A proteína CP4 EPSPS é derivada do gene *cp4 epsps* obtido de *Agrobacterium* sp. (cepa CP4), organismo que possuem um longo histórico de uso seguro. Como não existem relatos de alergias causadas por *Agrobacterium* sp., é possível se concluir que a proteína CP4 EPSPS não provém de fonte alergênica (1). As análises de bioinformática para avaliar as similaridades estruturais potenciais compartilhadas entre a proteína CP4 EPSPS e proteínas no banco de dados de alérgenos (AD4) foram avaliadas usando-se a ferramenta FASTA (1). Nenhuma seqüência imunologicamente relevante (identidades de oito aminoácidos contíguos) foi detectada quando a seqüência da proteína CP4 EPSPS foi comparada às seqüências no banco de dados AD4. Os ensaios da digestibilidade *in vitro* da proteína CP4 EPSPS em fluido gástrico simulado (SGF) e

fluido intestinal simulado (SIF) foram realizados e demonstraram que proteína CP4 EPSPS foi digerida quando incubadas em SGF e SIF. A proteína CP4 EPSPS demonstrou ser rapidamente degradada *in vitro*, utilizando fluidos digestivos simulados. Os dados mostraram degradação de grande parte da proteína CP4 EPSPS após 15 segundos de digestão (menor tempo testado) no fluido gástrico simulado (SGF). No fluido intestinal simulado (SFI), mais de 50% da proteína CP4 EPSPS produzida e purificada em *E. coli* foi degradada após 10 minutos de incubação (menor tempo testado), com base na análise de *Western blot*. A proteína CP4 EPSPS não foi detectada após a incubação em SIF por 100 minutos ou mais, indicando que se qualquer traço da proteína CP4 EPSPS resistir ao sistema gástrico será rapidamente degradada no intestino. Os resultados de digestibilidade da proteína CP4 EPSPS são consistentes com a proteína CP4 EPSPS em outras culturas que tiveram sua segurança demonstrada. O fato da proteína CP4 EPSPS ser prontamente digerida em fluido gástrico simulado faz com que seja improvável que ela atue como um alérgeno alimentar. A proteína CP4 EPSPS representa não mais que 0,12% da proteína total no caroço de algodão MON 88913. Em conjunto, esses dados permitem concluir que a proteína CP4 EPSPS apresenta probabilidade desprezível de causar alergias, e que o algodão MON 88913 é tão seguro quanto o algodão convencional com respeito ao risco de alergenicidade.

Estudos de avaliação nutricional com o algodão geneticamente modificado MON 88913, expressando a proteína CP4 EPSPS, presente na dieta de peixe (bagre) e vacas leiteiras foram conduzidos. Os peixes receberam o algodão MON 88913 na dieta. Os parâmetros (crescimento, eficiência do alimento, sobrevivência e composição do filé de bagres alimentados com dieta contendo 20% de ração de semente de algodão foram comparados com dietas contendo algodão convencional (controle) e referências comerciais. Os resultados mostraram que a sobrevivência de bagre de canal foi 99-100%, o que não diferiu entre os tratamentos; nenhum comportamento anormal dos animais foi observado e diferenças significativas não foram observadas no consumo alimentar, ganho de peso e consumo de ração (baseado em 90% de matéria seca)/ganho de peso de peixe vivo entre os tratamentos e na porcentagem de proteínas cruas, gorduras cruas, umidade e cinzas no filé de bagre alimentado com as diferentes dietas. O experimento com vacas multíparas e lactentes consistiu de quatro tratamentos, que incluíram dois produtos de algodão resistente a insetos (MON15985 e MON 531), um algodão MON 1445 que expressa a proteína CP4 EPSPS e o controle parental. Os parâmetros avaliados foram ingestão de matéria seca, rendimento e composição do leite. Os resultados indicaram que o fornecimento do algodão MON 1445, que expressa a mesma proteína CP4 EPSPS expressa no algodão MON 88913, resultou em desempenho similar ao fornecimento do algodão convencional e não alterou os parâmetros observados sob condições de alimentação controlada. Outro experimento com vacas *Holstein* Argentinas alimentadas com dietas compostas de diferentes fontes de algodão geneticamente modificado: algodão MON 531, algodão MON 1445 (que expressa o mesmo gene CP4 EPSPS do algodão MON 88913) e algodão convencional foi conduzido para avaliar a ingestão de matéria seca (DMI), o rendimento e a composição de leite desses animais. A DMI, o rendimento de leite, a composição do leite, o peso corporal e a nota da condição corporal não foram diferentes entre os tratamentos, e corroboram os resultados apresentados por Castillo et al. (2001). O algodão geneticamente modificado, que expressa o mesmo gene *cp4 epsps* do algodão MON 88913, levou a um desempenho similar das vacas leiteiras quando comparado com o desempenho alcançado com as dietas de algodão convencional. Os resultados apresentados foram importantes para caracterizar a segurança alimentar do algodão MON 88913 do ponto de vista nutricional para alimentação animal.

Análises de composição química e nutricional são úteis para indicar se os níveis de nutrientes, antinutrientes, toxicantes ou outros componentes do algodão MON 88913 foram alterados em relação ao controle convencional apropriado e às referências comerciais de algodão. Como parte da avaliação de segurança alimentar foi realizada análise de composição química e nutricional do

algodão MON 88913. Nos Estados Unidos, os estudos de composição do algodão MON 88913 foram conduzidos com grãos deslintados coletados de experimentos conduzidos em quatro locais. O algodão MON 88913 foi comparado com algodão controle com *background* genético representativo (do material testado, mas sem o DNA inserido) e dezesseis variedades comerciais de algodão produzidas nos mesmos experimentos juntamente com o algodão MON 88913. As análises dos grãos mediram composição centesimal (proteínas, gorduras totais, cinzas e umidade), fibras em detergente ácido (FDA), fibras em detergente neutro (FDN), fibras cruas, fibras totais na dieta (FTD), aminoácidos, ácidos graxos (C8-C22), ácidos graxos ciclopropenóides (ácido malválico, ácido estercúlico e ácido diidrostercúlico), vitamina E, minerais (cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio, sódio e zinco), gossipol (livre e total) e aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2). Adicionalmente, carboidratos e calorias foram determinados por cálculo. Ao todo, 69 componentes de grãos de algodão foram avaliados no algodão MON 88913. Desses, 50% das observações para 16 dos componentes ficaram abaixo do limite de detecção do ensaio e foram excluídos da análise estatística. Assim, 53 componentes foram analisados estatisticamente e um total de 265 comparações foi realizado: 53 para cada uma das cinco análises estatísticas (quatro locais individuais e uma combinação dos locais). As poucas diferenças estatísticas detectadas entre o algodão MON 88913 e o algodão convencional refletem a variabilidade natural dos componentes, uma vez que os níveis médios dos componentes do algodão MON 88913 ficaram dentro dos intervalos de tolerância de 99% para o algodão convencional e/ou dentro de intervalos publicados no banco de dados de composição do *International Life Science Institute* (*ILSI*) e na literatura científica. Com base nos dados e informações apresentados, pode-se concluir que os nutrientes- chave e outros componentes do algodão MON 88913 são equivalentes aos nutrientes- chave e outros componentes de algodão convencional, assim como seu valor nutricional. Os níveis de toxicantes e antinutrientes naturais do algodão MON 88913 foram comparáveis aos encontrados no algodão convencional, seja o algodão controle, sejam as referências comerciais. Pode-se concluir que não existem alterações intencionais na composição (incluindo nutrientes e antinutrientes) de alimentos e ração derivados do algodão MON 88913 comparado às variedades convencionais de algodão, exceto a introdução do gene *cp4 epsps* e a produção da proteína CP4 EPSPS que confere a tolerância ao glifosato.

Nos Brasil, os estudos de composição centesimal do algodão MON 88913 foram realizados com grãos coletados de experimentos conduzidos em Cachoeira Dourada/MG e Sorriso/MT. O algodão MON 88913 foi comparado com algodão controle convencional (de *background* genético similar ao MON 88913) e referências comerciais. As análises dos grãos mediram os seguintes componentes centesimais: cinzas, gordura, umidade, proteínas e carboidratos por cálculo e o gossipol (livre e total). Análises estatísticas, no caso as médias das repetições para cada local e os intervalos dos valores foram geradas para cada componente analisado. Os resultados de cada local foram analisados separadamente, com as referências dos dois locais usadas para gerar as médias e os intervalos de valores de componentes centesimais determinados para esses materiais. Para cada local, todos os níveis médios dos componentes centesimais e do gossipol determinados em grãos do algodão MON 88913 foram comparáveis aos valores médios do controle e ficaram ou dentro dos intervalos dos controles, ou das referências, ou de ambos, além de ficarem dentro dos intervalos encontrados no banco de dados de composição do ILSI. Pode-se concluir que a composição do algodão MON 88913 foi equivalente à composição das referências comerciais do algodão convencional. Os resultados coletados nos Estados Unidos e no Brasil mostraram que os grãos do algodão MON 88913 apresentaram composição equivalente ao das variedades de algodão convencional cultivadas comercialmente.

V. Aspectos Ambientais

Do ponto de vista de avaliação da segurança ambiental do algodão MON 88913, características fenotípicas, agronômicas e de interações ecológicas (planta-inseto, planta-patógeno e planta estresse abiótico) foram avaliadas em experimentos de laboratório e estudos de campo realizados nos Estados Unidos e no Brasil. Foi realizada avaliação da segurança ambiental do **algodão *MON 88913*** para verificar o potencial de fluxo gênico do algodão MON 88913 e o potencial deste algodão como uma planta daninha e planta voluntária.

Nos Estados Unidos experimentos de campo (safra 2002) foram conduzidos em 14 locais para avaliar as características fenotípicas do algodão MON 88913. Na avaliação fenotípica, agronômica e de interações ecológicas foram coletados dados, considerando-se as seguintes características: (1) dormência, germinação e emergência, (2) crescimento vegetativo, (3) fase reprodutiva, (4) retenção de sementes na planta e (5) interações da planta com insetos, doenças e estresses abióticos. Certas características de crescimento, reprodução e perda de sementes em pré-colheita (como queda de maçãs) foram usadas para uma avaliação do potencial do algodão MON 88913 como planta daninha. Um total de 41 características fenotípicas foi avaliado, incluindo 11 características relacionadas ao o crescimento e desenvolvimento da planta, 20 características do mapeamento da planta, quatro características de medida de maçã/semente e seis características de qualidade de maçãs e fibras. Os dados fenotípicos dessas avaliações de campo e laboratório indicaram que, comparado ao algodão controle, o algodão MON 88913 não possui características que confiram vantagem seletiva que poderia resultar em maior capacidade invasiva ou potencial como planta daninha. Portanto, a característica de tolerância ao glifosato não torna o algodão MON 88913 uma planta daninha ou invasiva de habitats naturais, uma vez que as características reprodutivas e de desenvolvimento do algodão não foram alteradas pela introdução do gene *cp4 epsps*. Para dormência de sementes e germinação do algodão MON 88913, os resultados indicaram a ausência de diferenças significativas entre o algodão MON 88913, o controle convencional (controle) e variedades comerciais. Pôde-se concluir que a presença do inserto ou da proteína CP4 EPSPS não alterou as características de germinação e dormência no algodão MON 88913. Estudos sobre tolerância reprodutiva e características fenotípicas florais (viabilidade e disponibilidade de pólen e morfologia floral) para determinar os efeitos de aplicações em pós-emergência do herbicida glifosato foram conduzidos com o algodão MON 88913, MON 1445 e algodão controle. O algodão MON 88913 demonstrou aumento significativo na tolerância reprodutiva e na porcentagem de viabilidade de pólen quando comparado ao algodão MON 1445. O comprimento do estame, a altura da antera e a deposição do pólen foram também maiores no algodão MON 88913 quando comparado ao algodão MON 1445. Para todos os parâmetros avaliados, exceto para altura de antera como uma porcentagem do comprimento do pistilo, não houve detecção de diferenças significativas entre o algodão MON 88913 não-tratado e o algodão controle não tratado. Os resultados apresentados permitiram concluir que o algodão MON 88913 possui uma margem de segurança significativamente maior para herbicidas a base de glifosato.

Nos Estados Unidos, as interações ecológicas do algodão MON 88913 nos experimentos de campo foram estudadas para pragas, doenças e estresses abióticos específicos. Catorze categorias de insetos (espécies ou grupos), quatro categorias de doenças e 10 de estresses abióticos foram avaliadas. Das 106 observações de insetos, somente um local teve uma diferença em uma das quatro observações na suscetibilidade a insetos entre o algodão MON 88913 e o algodão controle. Essa diferença não foi observada nas demais repetições e nos demais tempos ou locais de observação, e assim não foi considerada ser importante do ponto de vista biológico. Dentre as sete observações de doenças e 38 de estresses abióticos, diferenças não foram detectadas entre o algodão MON 88913 e o algodão controle. Esses resultados permitem concluir de que as interações ecológicas não foram alteradas no algodão MON 88913 quando comparado ao algodão controle. Os

resultados nas avaliações das interações ecológicas nos mesmos locais e anos, com base no monitoramento de insetos específicos, doenças e estresses abióticos não mostraram diferenças na suscetibilidade a pragas ou estresses ambientais. Portanto, as interações ecológicas para o algodão MON 88017 não foram alteradas pela modificação genética.

No Brasil, a avaliação das características fenotípicas, agronômicas e das interações ecológicas do algodão MON 88913 foram realizadas em experimentos conduzidos em Sorriso, MT (SOR) e Cachoeira Dourada, MG (CAD) (safras 2008/2009 e 2009/2010). Nos estudos comparativos realizados com o algodão MON 88913 foram avaliadas as seguintes características: dormência e porcentagem de germinação dos grãos, crescimento e desenvolvimento, características reprodutivas (viabilidade e morfologia de pólen) e avaliação de plantas voluntárias. As possíveis alterações fenotípicas que poderiam causar impacto no potencial como planta daninha e, em particular, no potencial como planta invasora também foram estudadas. Os dados de viabilidade (%) e diâmetro (µm) dos grãos de pólen do algodão MON 88913 não diferiram significativamente dos resultados observados para o algodão controle. O pólen das flores do algodão MON 88913 não apresentou variação significativa em relação ao pólen das flores do algodão controle, tanto para viabilidade quanto para diâmetro médio. Conclui-se que, independentemente do material testado, as variações de viabilidade e diâmetro de pólen das plantas avaliadas são naturais e não são influenciadas pela presença da proteína CP4 EPSPS. Os resultados de germinação dos grãos do algodão MON 88913, algodão controle e ao intervalo de valores das referências comerciais foram comparados. Para o algodão MON 88913 diferenças significativas não foram observadas para germinação dos grãos recém colhidos, tanto na análise individual como também na análise conjunta. Os dados sugerem que os grãos oriundos de plantas contendo a proteína CP4 EPSPS não diferem de plantas convencionais quanto à germinação dos grãos recém colhidos. Os resultados desses estudos permitiram concluir que a introdução da característica de tolerância ao glifosato não alterou as características avaliadas, em comparação ao algodão controle. Esses dados sugerem que o algodão MON 88913 não tem potencial maior que o algodão convencional de se tornar uma planta daninha. Portanto, conclui-se que não houve aumento do potencial do algodão MON 88913 em se tornar uma planta invasora, quando comparado ao algodão controle. Outro estudo foi realizado no Brasil para avaliar o potencial de germinação de sementes e crescimento do algodão como planta voluntária a partir de sementes produzidas em Cachoeira Dourada/MG (CAD) e Sorriso/MT (SOR). Os dados sugerem que não existe diferença entre sementes de algodão contendo a proteína CP4 EPSPS e sementes de algodão controle convencional em relação ao potencial de germinação quando colhidas e ressemeadas em campo.

No Brasil (safras 2008/2009, Sorriso, MT - SOR e Cachoeira Dourada, MG - CAD) foram coletados dados para características fenotípicas e agronômicas considerando-se: a emergência (estande inicial), vigor, data da primeira flor, data de 50% de floração, data da primeira maçã aberta, data de 50% maçãs abertas, altura das plantas, maturação fisiológica, estande final, rendimento e rendimento de grãos alvo. Para o algodão MON 88913 (tratado com glifosato), nas análises individuais por local, três diferenças significativas foram observadas em 22 comparações com o algodão controle. Essas diferenças foram distribuídas entre 3 das 11 características avaliadas, no caso, o vigor foi menor em CAD, a altura de plantas foi maior em CAD e a data de abertura do 1º capulho foi maior em SOR. Na análise conjunta, os dados médios do algodão MON 88913 tratado foram analisados em comparação aos dados médios do algodão controle e apenas uma diferença significativa na altura de plantas foi detectada dentre as 11 características avaliadas. Tanto na análise individual quanto na análise conjunta os valores encontrados para o material teste que diferiram significativamente do controle estavam contidos no intervalo de valores das referências comerciais. Os resultados das avaliações fenotípicas e agronômicas realizadas no Brasil corroboraram os dados gerados nos Estados Unidos, indicando que o algodão MON 88913 não possui características que possam conferir um risco significativo em se tornar uma planta daninha ou causar impacto ecológico

diferente do algodão convencional. No Brasil, para mensurar as possíveis interações ecológicas do algodão MON 88913, procedeu-se a amostragem da abundância de organismos não-alvo da parte aérea e da superfície do solo em levantamentos da entomofauna em experimentos de campo realizados em Sorriso/MT e Cachoeira Dourada/MG (safras 2008/2009 e 2009/2010).

As interações ecológicas do algodão MON 88913 foram avaliadas pela amostragem da abundância de organismos não-alvo da parte aérea realizada com o uso de armadilhas adesivas. Os resultados apresentados a partir do levantamento da entomofauna mostraram que algodão MON 88913 e o algodão controle são equivalentes em termos de visitação dos organismos de solo e de parte aérea. Conclui-se que interações ecológicas com organismos não-alvo não foram afetadas pela presença da proteína CP4 EPSPS no algodão MON 88913. Em complementação, outras pesquisas laboratoriais realizadas com diferentes tipos de artrópodos (abelha, colembolos, afídeos, percevejos, ácaros e crisopa-"bicho-bicheiro'') expostos a culturas Roundup Ready® (milho, soja, trigo) que expressam a proteína CP4 EPSPS. Nestes estudos, representantes de polinizadores, organismos de solo, artrópodos benéficos e pragas foram expostos a diferentes tecidos (pólen, sementes e folhas) de culturas Roundup Ready®. Esses estudos, embora tenham variado no seu desenho experimental, relataram a ausência de toxicidade da proteína CP4 EPSPS nas várias espécies indicadoras estudadas. A ausência de efeitos do algodão MON 88913 sobre artrópodos apresentou-se de maneira similar a outras culturas que expressam a proteína CP4 EPSPS. A proteína CP4 EPSPS expressa no algodão MON 88913 e nas demais culturas Roundup Ready® é similar às proteínas EPSPS nativas, que são ubíquas nos tecidos de plantas e microrganismos amplamente encontrados na natureza. Portanto, com base nesse histórico de ocorrência, e nos estudos apresentados neste relatório, não se espera que a proteína EPSPS expressa no algodão MON 88913 possua atividade biológica contra organismos não-alvo.

No Brasil foi realizada a avaliação das unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias, fungos e actinomicetos em amostras de solo coletadas na safra 2008/2009 em Cachoeira Dourada/MG e Sorriso/MT. Diferenças significativas não foram observadas nas comparações entre o algodão MON 88913 e o algodão controle, concluindo-se que a modificação genética no algodão MON 88913 não causa efeitos na microbiota do solo. A biodegradabilidade do algodão MON 88913 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, mantidas sobre a superfície do solo durante 180 dias. Os dados do presente estudo, portanto, sugerem que a biomassa do algodão MON 88913 não apresenta modificações significativas quanto à sua biodegradabilidade quando comparada à biomassa do algodão controle convencional, não contribuindo, portanto, para qualquer alteração ambiental como conseqüência da nova característica introduzida no algodão (tolerância ao glifosato).

O algodão pertence ao gênero *Gossypium* e o germoplasma conhecido pode ser dividido em espécies selvagens e espécies cultivadas, espécies diplóides (2n=2X=26) e tetraplóides (2n=4X=52) e espécies produtoras e não-produtoras de fibra fiável. Quatro espécies de importância agronômica possuem fibras de valor comercial, das quais duas (*Gossypium arboreum* e *G. herbaceum*) são espécies diplóides do Velho Mundo e duas (*G. barbadense* e *G. hirsutum*) são alotetraplóides do Novo Mundo. A variedade de algodão usada como recipiente do gene *cp4 epsps* para geração do algodão MON 88913 foi a Coker 312. Trata-se de variedade tradicional de algodão de terras altas (*G. hirsutum*), que foi utilizada para a geração do algodão MON 1445, do algodão MON 531 e do algodão MON 15985. No Brasil são encontradas três espécies de algodão: *Gossypium hirsutum* L., *Gossypium barbadense* L. e *Gossypium mustelinum* Miers ex Watt. *G. hirsutum* está representado por duas raças exóticas, a primeira é *G. hirsutum* r. *latifolium* Hutch., nativa do México e introduzida via EUA, amplamente cultivada no país e está presente quase que exclusivamente na forma de cultivares. A outra raça é *G. hirsutum* r. marie galante (Watt) Hutch., conhecida como "algodoeiro mocó' ou 'arbóreo", originária das Antilhas e trazida para o país pelos holandeses ou africanos

durante o período colonial. A espécie *G. barbadense* tem centro de domesticação no Norte do Peru e Sul do Equador foi introduzida por povos pré-colombianos e seu uso como planta têxtil se difundiu entre os colonizadores, mas, entrou em decadência com a disseminação das duas raças de *G. hirsutum*. Não é encontrada em ambientes naturais e é mantida, basicamente, como planta de fundo de quintal. Sua distribuição é ampla, estando presente em quase todo o país e a conservação *in situ* está diretamente ligada à manutenção das tradições de uso como planta medicinal. A única espécie nativa do Brasil é *G. mustelinum*, com distribuição natural restrita ao semi-árido nordestino. Apenas três pequenas populações são conhecidas, duas no Estado da Bahia e uma no Rio Grande do Norte e a soma das plantas adultas de todas essas populações não ultrapassa duas centenas. Todas as espécies de algodoeiro encontradas no Brasil são sexualmente compatíveis e os cruzamentos são mediados por insetos polinizadores. Na falta de barreiras sexuais completas, o isolamento geográfico entre cultivares e as populações que se deseja proteger tem sido usado para reduzir a probabilidade de cruzamentos. Estados Unidos e Austrália adotaram essa estratégia para evitar a ocorrência de fluxo gênico entre populações selvagens e ferais de algodoeiro com cultivares geneticamente modificadas. A medida tem se mostrado eficaz, pois nenhum relato de transferência do transgene, tampouco de sua introgressão, foi comunicado até o momento. No Brasil, "Zonas de Exclusão de algodoeiros transgênicos para preservação de espécies de *Gossypium* (nativas ou naturalizadas)" foram estabelecidas no Comunicado 242 da Embrapa Algodão e Portaria MAPA nº. 21/2005 (Brasil, 2005). Essas zonas de exclusão de plantio de algodão geneticamente modificado contemplam os locais onde ocorrem e estão distribuídas populações ferais de *G. hirsutum* r. marie galante ("algodoeiro mocó") e *G. mustelinum*. Os riscos eventuais e potenciais ao meio ambiente, foram consideradas e analisadas questões relativas à distribuição de forma silvestre de *G. mustelinum*, endêmica, no sul do Rio Grande do Norte e no nordeste baiano, ou sub-espontâneas da espécie *G. barbadense* L., em toda região Amazônica, no Pantanal, no sudeste do Piauí e oeste de Pernambuco, e na Mata Atlântica, compreendendo os estados RN, PB, AL, SE, BA, MG e ES, em área equivalente ao cerrado brasileiro. Assim como manifestado anteriormente, nos processos 01200.000800/2010-17 e 01200.002699/2010-39, nestas áreas não é recomendado o plantio do evento MON 88913. As conseqüências ambientais da transferência de pólen do algodão MON 88913 para outras plantas de algodão, ou para outras espécies relacionadas à *Gossypium* são consideradas mínimas. Isso ocorre devido ao movimento limitado do pólen do algodão, devido à segurança da proteína exógena CP4 EPSPS expressa na planta e também devido à ausência de qualquer vantagem seletiva conferida pelo gene *cp4 epsps*. Portanto, o potencial de fluxo gênico em espécies sexualmente compatíveis é improvável, já que as espécies selvagens compatíveis se encontram em poucas áreas isoladas no Brasil.

No âmbito da segurança ambiental, os resultados das avaliações fenotípicas e agronômicas realizadas no Brasil corroboraram os dados gerados nos Estados Unidos, indicando que o algodão MON 88913 não possui características que possam conferir um risco significativamente alterado de se tornar uma planta daninha ou causar impacto ecológico diferente do algodão convencional. Além disso, dados de interações ecológicas apresentados também indicaram que o algodão MON 88913, não conferir nenhuma suscetibilidade ou tolerância maior a doenças e estresses abióticos ou insetos. Também foi verificado que o algodão MON 88913, não possui potencial para causar efeitos adversos aos organismos benéficos, às plantas ou aos organismos não-alvo. Avaliados em conjunto, os dados de segurança alimentar e ambiental do algodão MON 88913 mostraram que o algodão MON 88913 não impõe risco a saúde humana, animal e ao meio ambiente quando comparado ao algodão convencional.

Cabe ressaltar que o algodão MON 88913 encontra-se atualmente aprovado na China (2007), na Colômbia (2007), na África do Sul (2007), no México (2006), na Austrália e Nova Zelândia (2006), na Coréia do Sul (2006), no Canadá (2005), no Japão (2005), nas Filipinas (2005) e nos Estados

Unidos (2004) e até o momento, solicitações de liberação comercial do algodão MON 88913 não foram recusadas em nenhum país.

VI. Restrições ao uso do OGM e seus derivados

A análise dos dados sobre biossegurança alimentar e ambiental do algodão MON 88913, realizados no Brasil e nos Estados Unidos, mostraram que o algodão MON 88913 é equivalente ao algodão convencional e as referências comerciais. Adicionalmente, não há evidência de reações adversas ao uso do algodão MON 88913. Por essas razões, não existem restrições ao uso deste algodão ou de seus derivados seja para alimentação humana ou de animais.

VII. Considerações sobre particularidades das diferentes regiões do País (subsídios aos órgãos de fiscalização)

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".

As zonas de restrição ao plantio de algodão geneticamente modificado (Anexo da Portaria MAPA nº 21/2005), deste evento (algodão MON 88913) e de outras transformações, devem ser rigorosamente observadas pelos órgãos de fiscalização, tanto no comércio de sementes em tais áreas, quanto na orientação técnica e monitoramento da empresa requerente.

VIII. Conclusão

Considerando que o algodão MON 88913 pertence à espécie (*Gossypium hirsutum* L.) bem caracterizada e com sólido histórico de segurança para consumo humano e animal e que o gene *cp4 epsps* introduzido nessa variedade não codifica proteína tóxica, mas proteínas ubíquas na natureza, presentes em plantas, fungos e microrganismos que também apresentam longo histórico de uso seguro para seres humanos e animais;

Considerando que a construção deste evento ocorreu através de técnicas de DNA recombinante e que resultou na herança de uma cópia estável e funcional com dois genes *cp4 epsps*, os quais proporcionaram tolerância ao herbicida glifosato.

Considerando que dados de composição centesimal não apontaram diferenças significativas entre a variedade de algodão geneticamente modificada MON 88913 e as convencionais, sugerindo a equivalência nutricional entre elas;

Considerando ainda que:

- o evento MON 88913 foi caracterizado molecularmente, tendo sido atestada a manutenção da integridade da construção gênica herdada, isto é, um inserto único e intacto, integrado em um único loco do genoma do algodão, com todos os elementos genéticos intactos, e nenhuma região do plasmídeo PV-GHGT35 presente no evento de transformação gerado;
- a expressão da proteína CP4 EPSPS no algodão MON 88913 não é significativamente diferente da expressão observada em *E. coli*;
- não há indícios de que proteína CP4 EPSPS presente no algodão MON 88913 causem alergia ou intoxicação em humanos e animais;

- as avaliações agronômicas e de eficácia do no algodão MON 88913 indicaram que esse evento não levou à expressão de qualquer outra característica que não aquela esperada, ou seja, a tolerância a herbicida glifosato;
- não foram identificados efeitos pleiotrópicos ou epistáticos no algodão MON 88913;
- não foram evidenciadas alterações botânicas no algodão MON 88913 que possam conferir vantagens adaptativas e
- as demais análises de risco realizadas por países que já avaliaram o algodão MON 88913.

Diante destas considerações o plenário da CTNBio concluiu que o algodão MON 88913 é tão seguro quanto seu equivalente convencional. No âmbito das competências que lhe são atribuídas pelo Art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que o pedido atende às normas e às legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal, e concluiu que o algodão MON 88913 é substancialmente equivalente ao algodão convencional, sendo seu consumo seguro para a saúde humana e animal. No tocante ao meio ambiente, a CTNBio concluiu que o algodão MON 88913 não é potencialmente causador de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota e relação idêntica ao algodão convencional. Com base em justificativas técnicas e científicas a CTNBio reserva-se o direito de rever este Parecer a qualquer momento.

A CTNBio considera que essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou de agravos à saúde humana e animal. As restrições ao uso do OGM em análise e seus derivados estão condicionadas ao disposto na Lei 11.460, de 21 de março de 2007.

Com relação ao plano de monitoramento pós-liberação comercial de OGM tolerante a herbicida, a CTNBio determina que sejam seguidas as instruções e executadas as ações técnicas de monitoramento abaixo relacionadas:

I) Instruções:

a) O monitoramento deve ser realizado em lavouras comerciais e não em experimentais. As áreas escolhidas para serem monitoradas não devem ser isoladas das demais, devem possuir bordaduras ou qualquer situação que seja fora do padrão comercial.

b) O monitoramento deve ser realizado em modelo comparativo entre o sistema convencional de cultivo e o sistema de cultivo do OGM, sendo a coleta de dados realizada por amostragem.

c) O monitoramento deverá ser conduzido em biomas representativos das principais áreas de cultura do OGM e, sempre que possível, contemplar os diferentes tipos de produtores.

d) O monitoramento deve ser realizado pelo período mínimo de 5 anos.

e) Para todos os monitoramentos, a proponente deve detalhar as informações sobre todas as atividades realizadas no pré-plantio e plantio, sobre sua execução, com relato das atividades conduzidas nas áreas de monitoramento durante o ciclo da cultura, sobre as atividades de colheita e das condições climáticas.

f) Deverá haver também acompanhamento de eventuais agravos à saúde humana e animal por meio dos sistemas oficiais de notificação de efeitos adversos, como por exemplo, o SINEPS (Sistema de Notificação de Eventos Adversos relacionados a Produtos de Saúde) regulamentado pela ANVISA/MS.

g) Os métodos analíticos, resultados obtidos e suas interpretações devem ser desenvolvidos em conformidade com princípios de independência e transparência, ressalvados aspectos de sigilo comercial, previamente, justificados e definidos como tal.

II) - Ações técnicas de monitoramento a serem executadas:

Com relação ao gene *cp4 epsps*, que confere resistência ao herbicida glifosato devem ser monitorados:

a) Estado nutricional e sanidade das plantas OGM.

b) Atributos químicos e físicos do solo relacionados à fertilidade e outras características pedológicas básicas.

c) Diversidade microbiana do solo.

d) Banco de diásporos do solo.

e) Comunidade de plantas invasoras.

f) Desenvolvimento de resistência ao herbicida em plantas invasoras.

g) Resíduos do herbicida no solo, nos grãos e na parte aérea.

h) Fluxo gênico dos dois genes inseridos.

A análise da CTNBio considerou os pareceres emitidos pelos membros da Comissão, documentos aportados na Secretaria Executiva da CTNBio pela requerente e resultados de liberações planejadas no meio ambiente. Foram também considerados e consultados estudos e publicações científicas independentes da requerente, realizados por terceiros.

IX. Referências Bibliográficas

Abrahão, O.S. 2010. Viabilidade e morfologia do pólen de algodão MON 15985, algodão MON 88913, algodão MON 15985 × MON 88913 e algodão convencional em solos brasileiros. MSP-053/Amostras geradas no plano BRZ-08-399.

An, Y.Q., J.M. McDowell, S. Huang, E.C. McKinney, S. Chambliss, e R.B. Meagher. 1996. Strong, constitutive expression of the *Arabidopsis* ACT2/ACT8 actin subclass in vegetative tissues. *Plant Journal* 10:107-121.

Axelos, M., C. Bardet, T. Libox, A. Le Van Thai, C. Curie, e B. Lescure. 1989. The gene family encoding the *Arabidopsis thaliana* translation elongation factor EF-1alpha: molecular cloning, chararacterization and expression. *Mol. Gen.Genet*. 219:106-112.

Australia New Zealand Food Authority. Draft risk assessment: Application A355 - food produced from glyphosate tolerant cotton line 1445.

Barker, R.F., K.B. Idler, D.V. Thompson, e J.D. Kemp. 1983. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium* tumefaciens octapine Ti Plasmid pTi15955. *Plant. Mol. Biol*. 2:335-350.

Barry, G.F., G.M. Kishore, S.R. Padgette, e W.C. Stallings. 1997. Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. *United States Patent* 5.633.435.

Barroso, P.A.V., E.C. Freire, J.A.B. Amaral, e M.T. Silva. 2005. Zonas de exclusão de algodoeiros transgênicos para preservação de espécies de *Gossypium* nativas ou naturalizadas. *Comunicado Técnico 242.* Embrapa Algodão, Campina Grande, PB:7p.

Brasil Ministério de Ciência e Tecnologia - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Parecer Técnico nº 1598/2008. Liberação Comercial de algodão geneticamente modificado, algodão Roundup Ready, evento MON 1445. Processo nº 01200.004487/2004-48. http://www.ctnbio.gov.br/ index.php/content/view/12387.html Acessado em 09/11/2010

Brasil Ministério de Ciência e Tecnologia - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Parecer Técnico nº 2051/2009. Liberação Comercial de algodão resistente a insetos e tolerante a herbicida, Algodão MON 531 x MON 1445. Processo nº 01200.000927/2009-01. http://www.ctnbio.gov.br/index.php/ content/view/ 14298.html. Acessado em 09/11/2010

Brasil - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 21, de 13 de janeiro de 2005. Reconhecer as localidades, os municípios e as Unidades da Federação constantes do anexo desta

Portaria, como zonas de exclusão onde não poderão ser cultivados sementes ou caroços de algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum*) geneticamente modificado.

Breeze, M.L., S.G. Riordan, e K. Richard. 2010. Composition analyses of cottonseed collected from MON 88913 grown in Brazil during the 2008/2009 field season. MSL00224989/REG-09-461.

Bookout, J.T., N.G. Pineda, N.R. Nicholas, e J.C. Jennings. 2003. Assessment of *CP4 EPSPS* protein levels in leaf, root, seed, and pollen tissues from Roundup Ready flex cotton MON 88913 produced in 2002 field trials. *Monsanto Technical Report MSL* 18849.

Boongird, S., T. Seawannasri, T. Ananachaiyong, e S. Rattithumkul. 2003. Effect of Roundup Ready corn NK603 on foraging behavior and colony development of *Apis mellifera* L. under greenhouse conditions. *Proceedings of the sixth national plant protection conference*: 26-27.

Canadian Food Inspection Agency, Plant Biosafety Office.Decision document 97-21: Determination of the safety of cotton lines with Roundup Ready™ Genes.

Castillo, A.R., M.R. Gallardo, M. Maciel, J.M. Giordano, G.A. Conti, M.C. Gaggiotto, O. Quaino, C. Gianni, e G.F. Hartnell. 2001. Effect of feeding dairy cows with either BollGardR, BollGard IIR, Roundup ReadyR or control cottonseeds on feed intake, milk yield and milk composition. *J. Dairy Sci* 84:413.

Castillo, A.R., M.R. Gallardo, M. Maciel, J.M. Giordano, G.A. Conti, M.C. Gaggiotti, O. Quaino, C. Gianni, e G.F. Hartnell. 2004. Effects of feeding rations with genetically modified whole cottonseed to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*87:1778-1785

Codex. 2003. Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant DNA plants. *CAC/GL:45.*

CONAB. 2010. Acompanhamento da Safra Brasileira: grãos: intenção de plantio, décimo levantamento, julho, 2010. *Companhia Nacional de Abastecimento*. Brasília, DF.

Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards, e N. Chua. 1984. Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *EMBO* 3:1671-1679.

Deguine, J. P. et al. Sustainable pest management for cotton production. *A review. Agronomy for Sustainable Development*, v. 28, n. 1, p. 113-137, Jan-Mar 2008.

Della-Cioppa, G. et al. Transformation of the precursor of 5-nolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplast of higher plants in vitro. *Proceedings of National Academy of Science*, v. 83, p.6873-6877, 1986.

Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski, e H.M. Goodman. 1982. Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. *J. Mol. Appl. Genet*. 1:561-573.

European Commission Scientific Committee on Plants. Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding the genetically modified cotton, tolerant to glyphosate herbicide notified by the Monsanto Company (notification C/ES/97/01) (Opinion expressed by the SCP on 14 July 1998)

European Commission: Community Register of GM Food and Feed. Notification of the placing on the Community Register of MON-Ø1445-2.

Franz, J., M.K. Mao, e J.A. Sikorski. 1997. Glyphosate: a unique global herbicide. *ACS Monograph* Chapter 3:27-65.

Freire, E.C. 2000. Distribuição, Coleta, Uso e Preservação das Espécies Silvestres de Algodão no Brasil. *Embrapa*, Campina Grande. 22p.

Fincher, K.L., S. Flasinski, e J.Q. Wilkinson. 2003. Plant expression constructs 6: 660,911.

Goldstein, S.M. 2003. Life history observations on three generations of *Folsomia candida* (Willem) (*Collembola*: Isotomidae) fed yeast and Roundup Ready soybeans and corn. *Thesis* submitted to Michigan State University.

Gujar, G. T. et al. Toxicity to the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, of some Cry1Ac toxins expressed in cotton in India. Crop Protection, v. 27, n. 3-5, p. 537-544, Mar-May 2008

Harvey, T.L., T.J. Martin, e D. Seifers. 2003. Effect of Roundup Ready wheat on greenbug, Russian wheat aphid, (*Homoptera*: Aphididae) and wheat curl mite, (*Acari*: Eriophyidae). *J. Agric. Urban Entomol*. 20:203-206.

Horak, M.J., e C.L. Woodrum. 2003. Phenotypic and ecological observations of Roundup Ready flex cotton MON 88913 in U.S. field trials during 2002 for an assessment of equivalence and weed potential. *Monsanto Technical Repor*t MSL 18876.

Harrison, L. A., Bailey, M. R., Naylor, M.W., Ream, J.E., Hammond, B.G., Nida, D.L., Burnette, B.L., Nickson, T.E., Mitsky. T.A., Taylor, M.L., Fuchs, R.L., Padgette, S.R. 1996. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacteriun* sp. Strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice. *Journal of Nutrition,* 126:728-740.

Hartnell, G.F., C. Gianni, G.W. Videla, A.R. Castillo, M. Maciel, e M. Gallardo. 2001. Sponsor summary report: effect of feeding cottonseed produced from cotton containing Bollgard, Bollgard II or Roundup Ready on feed intake, milk production and composition in lactating dairy cows in Argentina. *Monsanto Technical Report* MSL 17294.

Hammond, B., e A. Cockburn. 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. (2008) Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology*, CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC.:259-288.

ILSI-CCD. 2006. *International Life Science Institute* Crop Composition Database. http://www.cropcomposition.org/ Version 3.0.

Jamornman, S., S. Sopa, S. Kumsri, T. Anantachaiyong, e S. Rattithumkul. 2003. Roundup Ready corn NK603 effect on Thai greenlacewing, Mallada basalis (Walker) under laboratory conditions. Proceedings of Sixth National, *Plant Protection Conference*: 29-30.

Japanese Biosafety Clearing House, Ministry of Environment. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1 use approval for MON1445

Kay, R., A. Chan, M. Daly, e J. McPherson. 1987. Duplication of CaMV 35S Promoter sequences creates a strong enhancer for plant genes. *Science* 236:1299-1302.

Kapur, M. et al. A Case Study for Assessment of Microbial Community Dynamics in Genetically Modified Bt Cotton Crop Fields. *Current Microbiology*, v. 61, n. 2, p. 118-124, Aug 2010.

Kim, J. H. et al. Multiplex PCR detection of the MON1445, MON15985, MON88913, and LLcotton25 varieties of GM cotton. Food Science and Biotechnology, v. 17, n. 4, p. 829-832, Aug 2008.

Klee, H.J., MUSKOPF, Y.M., GASSER, C.S. Cloning of an Arabidopsis thaliana gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Molecular Genomics and Genetics*, v. 210, p. 437-442, 1987.

Lee, J.A. 1984. Cotton as a world crop, In R. J. Kohel and C. F. Lewis, eds. Cotton, Vol. Agronomy No. 24. Soil Society of America, Inc., Madison, Wisconsin.

Levin, J.G., e D.B. Sprinson. 1964. The enzymatic formation and isolation of 3-enolpyruvylshikimate-5-phosphate. *J Biol Chem* 239:1142-1150.

Li, M.H., G.F. Hartnell, E.H. Robinson, J.M. Kronenberg, C.E. Healy, D.F. Oberle, e J.R. Hoberg. 2008. Evaluation of cottonseed meal derived from genetically modified cotton as feed ingredients for channel catfish, Ictalurus punctatus. *Aquaculture Nutrition* 14(6):490-498.

Monsanto do Brasil, 2010. *Relatório de Biossegurança Alimentar e Ambiental do algodão MON 88913*, 231 pags., 2010.

Moreira, J.A.N e Santos, R.F. Origem, crescimento e progresso da cotonicultura do Brasil. EMBRAPA-CNPA, Brasilia: *Embrapa-SPI*, 1994.169p.

McGregor, S.E. Insect pollination of cultivated crops plants. Washington:USDA, 1976.411p. (USDA. Agriculture Handbook, 496).

Obert, J.C., W. Trujillo, R. Sorbet, e S. Riordan. 2003. Compositional analyses of cottonseed collected from Roundup Ready flex cotton MON 88913, negative segregant control, MON 88913(-), and commercial non-transgenic cotton varieties from U.S. field trials in 2002. *Monsanto Technical Report* MSL 18776.

Office of the Gene Technology Regulator. Risk Assessment and Risk Management Plan for application DIR 066/2006: Commercial release of five herbicide tolerant and/or insect resistant GM cotton lines in northern Australia.

Okunuki, H., Techima, R., Shigeta, T., Sakushima, J., Akiyama, H., Yukihiro, G., Toyoda, M., and Sawada, J. 2002. Increased digestibility of two products in genetically modified food (CP4 EPSPS and Cry1Ab) after preheating. *Food Hyg. Soc. Japan* 43:68-73.

Oliveira, W.S. 2010a. Degradabilidade de amostras de restos culturais do algodão MON 15985, algodão MON 88913, algodão MON 15985 × MON 88913 e algodão convencional em solos brasileiros. MSP-050/Amostras geradas no plano BRZ-08-399.

Oliveira, W.S. 2010b. Avaliação da germinação de grãos de algodão MON 15985, algodão MON 88913, algodão MON 15985 × MON 88913 e algodão convencional. MSP-051/Amostras geradas no plano BRZ-08-399.

Oliveira, W.S. 2010c. Avaliação de plantas voluntárias oriundas de grãos de algodão MON 15985, algodão MON 88913, algodão MON 15985 × MON 88913 e algodão convencional produzidas em quatro estações experimentais no Brasil. MSP-047/BRZ-08-37.

Oliveira, W.S. 2010d. Avaliação de abundância de organismos não alvo em área cultivada com algodão MON 15985, algodão MON 88913, algodão MON 15985 × MON 88913 e algodão convencional produzidos em ambiente natural. MSP-046/BRZ-08-400.

Oliveira, W.S. 2010e. Avaliação do efeito do algodão MON 15985, algodão MON 88913, algodão MON 15985 × MON 88913 e algodão convencional sobre o número de microrganismos do solo em ambiente natural. MSP-049/Amostras geradas no plano BRZ-08-399.

Oliveira, W.S. 2009. Relatório de Conclusão de liberação planejada no meio ambiente de algodão MON 15985, algodão MON 88913 e algodão MON 15985 x MON 88913. (Referente à liberação planejada no meio ambiente processo CTNBio nº 01200.0003555/2007-09 (Com informações confidenciais).

Padgette, S.R.; Kolacz, K.H.; Delannay, X. 1995. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Science*. 35: 1451-1461.

Padgette, S.R., D. Re, G. Barry, D. Eichholtz, X. Delannay, R.L. Fuchs, G. Kishore, e R.T. Fraley. 1996. New weed control opportunities: Development of soybeans with a Roundup Ready® gene CRC Press, Boca Raton, Florida.

Percival, A.E., J.F. Wendel, e J.M. Stewart. 1999. Taxonomy and germplasm resources, In C. W. Smith and J. T. Cothren,eds. Cotton: Origin, History, Technology, and Production. John Wiley & Sons, New York, New York.

Pharmacopeia, U.S. 1995. The National Formulary Mack Printing Co, Easton, PA.

Richins, R.D., H.B. Scholthof, e R.J. Shepherd. 1987. Sequence of figwort mosaic virus DNA (*caulimovirus* group).*Nucleic Acids Res* 15:8451-66.

Rogers, S.G., e H. Klee. 1987. Pathways to genetic manipulation employing *Agrobacterium*. *Plant gene research;* Plant DNA infectious agents 4:179-203.

Steinrücken, H.C., e N. Amrhein. 1980. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochem Biophys Res Commun* 94:1207-1212.

Umbeck, P., G. Johnson, K. Barton, e W. Swain. 1987. Genetically transformed cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants. *Biotechnology* 5:263-266.

US Food and Drug Administration. Memorandum to file concerning glyphosate tolerant cotton lines 1445 and 1698.

USDA-APHIS Environmental Assessment. Monsanto Petition 95-045-01p to USDA/APHIS for Determination of Nonregulated Status of Glyphosate Tolerant Cotton (Roundup ReadyTM) lines 1445 and 1698

Vitale, J. et al. Second-generation Bt cotton field trials in Burkina Faso: Analyzing the potential benefits to West African farmers. Crop Science, v. 48, n. 5, p. 1958-1966, Sep-Oct 2008.

Wolfenbarger, L. L. et al. Bt Crop Effects on Functional Guilds of Non-Target Arthropods: A Meta-Analysis. Plos One, v. 3, n. 5, May 2008.

Zhang, G. F. et al. Reproductive biolop, of two nontarget insect species, Aphis gossypii (*Homoptera* : Aphididae) and *Orius sauteri* (*Hemiptera*: Anthocoridae), on Bt and non-Bt cotton cultivars. Environmental Entomology, v. 37, n. 4, p. 1035-1042, Aug 2008.

Zhang, J. et al. Transgene integration and organization in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genome. *Transgenic Research*, v. 17, n. 2, p. 293-306, Apr 2008.

Brasília, 11 de outubro de 2011

Dr. Edilson Paiva
Presidente da CTNBio

Assessor Técnico: Marcos Roberto Bertozo

X - Voto divergente

Votaram contrariamente ao pleito: Dr. Leonardo Melgarejo, Dra Solange Telles da Silva e Dr. José Maria Gusman Ferraz. O Dr. Leonardo Melgarejo justificou que seu voto fora contrário por considerar que "*os estudos não cumprem o item 6 do Artigo 10 da Resolução Normativa nº5/2008 que em conformidade com o Anexo III exige avaliação de risco à saúde humana e animal compreendendo estudos que outros colegas consideram desnecessários e também porque o item 7 do Art. 10 da RN05 estabelecem exigências com conformidade do Anexo 4 da mesma Resolução Normativa, portanto com base nestas justificativas".* A Dra. Solange Telles da Silva justificou que seu voto fora contrário "*pelo fato da proposta não estar acompanhada com todos os documentos tal qual disposto na Resolução Normativa nº 05, Artigo 10, Incisos sétimo e sexto".* O Dr. José Maria Gusman Ferraz não justificou a sua declaração de voto.

X - Abstenções

Houve abstenção da Dra Graziela Almeida da Silva.

Observação: A empresa solicitou retificação do texto do Parecer Técnico nº. 2.956/2011 por meio da Carta-REG-1235/11, de 14 de setembro de 2011, protocolo MCT/CTNBio nº. 37678/11, de 21/09/11. O texto deste parecer (destacado em cinza claro, itálico e negrito) foi retificado pela Secretaria Executiva.

SPO – Área 05 – Quadra 03 Bloco B – Térreo – Salas 08 a 10
Brasília , DF – CEP: 70610-200
Fones: (55)(61) 3411 5151 – FAX: (55)(61) 3317 7475
N/C: _____