

PARECER TÉCNICO Nº 4408/2015



Processo: 01200.000202/2014-71

Requerente: FuturaGene do Brasil Tecnologia Ltda.

CQB: 325/11

CNPJ: 12.777.984/0001-09

Endereço: Avenida Dr. José Lembo, 1010 - Jardim Bela Vista – Itapetininga/SP

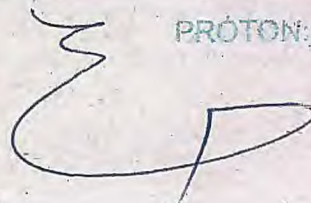
Presidente da CIBio: Eduardo José de Mello

Título da Proposta: Liberação comercial do eucalipto geneticamente modificado – Evento H421.

Reunião: 181ª. Reunião ordinária ocorrida em 09/04/2015.

A CTNBio, após apreciação do pedido de parecer para liberação comercial de eucalipto geneticamente modificado, concluiu pelo seu **DEFERIMENTO**, nos termos deste parecer técnico.

A Futuragene do Brasil Tecnologia Ltda., solicitou para CTNBio parecer sobre a biossegurança do eucalipto geneticamente modificado para aumento volumétrico de madeira para efeito de sua liberação no meio ambiente, comercialização, consumo e quaisquer outras atividades relacionadas a esse OGM e progênies dele derivadas. O evento H421 no híbrido *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla* expressa duas proteínas em todos os tecidos da planta. A proteína Cell, cujo gene é proveniente de *Arabidopsis thaliana*, promove um crescimento mais rápido da planta. A proteína NPTII confere resistência a antibióticos aminoglicosilados (neomicina, canamicina, etc), importante para o processo seletivo dos transformantes. O eucalipto não é uma espécie nativa do Brasil, não tem no país centro de diversidade secundária, tampouco parentes silvestres com os quais possa realizar cruzamentos, bem como não apresenta invasividade nas áreas com aptidão para plantio da espécie. Além disso, o eucalipto é polinizado por insetos que tipicamente não transportam o pólen por distâncias muito grandes. O transporte pelo vento tampouco ultrapassa 1.000 m. Neste contexto, foram pormenorizadamente analisadas todas as preocupações cabíveis em relação aos riscos diretos da introdução do OGM no ambiente e trazidas à luz por meio de



dOCUMENTOS encaminhados à CTNBio, por busca ativa de publicações, pela proponente, pelos participantes da audiência pública e por publicação independentes. O ponto final de avaliação mais relevante foi a abelha *Apis mellifera*. Hipóteses ligando os perigos identificados aos danos foram construídas, concluindo-se pela existência apenas de riscos insignificantes.

A CTNBio analisou os relatórios apresentados pela requerente bem como literatura científica independente. Estudos científicos realizados para avaliação de biossegurança, características agronômicas e fenotípicas, como parte da avaliação de risco deste OGM, incluíram de regiões representativas para a cultura do eucalipto no território brasileiro.

Após análise dos dados, a CTNBio concluiu que não há restrições ao uso deste eucalipto ou 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*”. No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que o pedido atende às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, da agricultura e da saúde humana e animal.

PARECER TÉCNICO

I. Identificação do OGM

Designação do OGM: Evento H421 de eucalipto

Espécie: Híbrido de *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla*

Característica inserida: maior crescimento e maior produção de madeira

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

Uso proposto: Plantio, ensaios, testes, semeadura, cruzamentos, transporte, armazenamento, descarte, comercialização e quaisquer outras atividades relacionadas ao uso de plantas de eucalipto.



Proteínas Expressas: Cel 1 (1,4- β -endoglucanase) e NPTII (neomicina fosfotransferase tipo II)

II. Informações Gerais



O evento H421 no híbrido *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla* expressa duas proteínas em todos os tecidos da planta:

a) A enzima 1,4- β -endoglucanase (Cell), produto do gene *cell* isolado de *Arabidopsis thaliana* (The *Arabidopsis* Information Resource, 2014). Cell é uma glicosil hidrolase (1,4- β -endoglucanase) que se liga à celulose não cristalina e às xiloglucanas, promovendo o relaxamento da parede celular durante as fases de expansão e alongamento da célula vegetal. A proteína Cell, constituída por 492 aminoácidos e tem peso molecular de 54 kDa, é bastante conservada entre plantas, inclusive naquelas empregadas como alimento (arroz, milho soja, feijão, batata, pepino, etc). Trata-se, portanto, de uma proteína amplamente distribuída na natureza e consumida como alimento nos vários segmentos da cadeia alimentar (desde insetos até mamíferos). A proteína tem um *turn over* rápido e sua concentração intracelular só é significativa em tecidos jovens.

b) A proteína NPTII (neomicina fosfostransferase tipo II), de 52 kDa, é uma enzima que confere resistência a certos antibióticos como a neomicina e a canamicina. A enzima é o produto do gene *nptII* de *Escherichia coli* (ISAAA, 2014) e é expressa em todos os tecidos da planta. É importante destacar que estes antibióticos não são empregados na agricultura para o controle de doenças.

Em síntese, o eucalipto geneticamente modificado apresenta uma cópia funcional para a expressão da proteína Cell, pertencente à família das glicosil-hidrolases, influenciando no crescimento da madeira. Desta forma, espera-se o aumento do volume de biomassa por área. Como marcador, foi inserido o gene NPTII que confere resistência a antibióticos do espectro dos aminoglicosídeos. Ambas as proteínas são expressas em vias bioquímicas distintas, não se vislumbrando interação entre as mesmas.

A inserção demonstrou estabilidade ao longo de cruzamentos em progênies analisadas por técnicas de PCR, demonstrando padrão tipicamente mendeliano. A transformação genética não alterou nenhum dos padrões botânicos do eucalipto e, por se tratar de uma espécie exótica, não se vislumbra que o mesmo modifique seu comportamento silvicultural nos diversos biomas brasileiros.

A quantificação da expressão das proteínas Cell e NPTII foi realizada em tecidos do eucalipto H421 produzidos em laboratório (cultura de tecido) e em amostras coletadas em ensaios de campo. Os resultados dos ensaios mostraram que os genes *cell* e *npII* são transcritos em baixas proporções em todos os tecidos avaliados (tecidos de cultura, folhas jovens e maduras, ramos, raízes, grãos de pólen). Devido à sua alta identidade e similaridade com endoglucanases presentes no eucalipto, não foi possível obter anticorpos específicos para a proteína Cell, destinados a ensaios laboratoriais, além do fato desta apresentar concentração abaixo do limite de quantificação dos métodos disponíveis, exceto para as amostras oriundas da cultura de tecidos. Desta forma, foram conduzidas análises semiquantitativas diferenciais por Western blot, utilizando extratos proteicos do evento H421 e do controle convencional clone SP530, com anticorpos que se ligam ao total das endoglucanases, grupo no qual está inserida a enzima Cell. A média de concentração de endoglucanases em folhas jovens foi de 27,4 e 22,67 µg/g de tecido fresco para o evento GM e para o clone SP530, respectivamente. Em folhas maduras colhidas em campo, as endoglucanases apresentaram concentração de 18,87 µg/g de tecido fresco no evento GM e de 22,33 µg/g de tecido fresco no clone SP530. As médias das quantidades de proteína NPTII expressa (em ng/g de tecido fresco) nos locais avaliados foram de 5,3 em pólen, 16,7 em folhas jovens, 22,2 em folhas maduras e 27,2 em raiz. As concentrações de endoglucanases não representam mais do que 0,35 % do total de proteínas extraídas dos tecidos do eucalipto H421, o que significa menos de 0,05 % em relação à composição total dos tecidos do evento geneticamente modificado, enquanto as concentrações de NPTII não passam de 0,003 % do total de proteínas extraídas. Não se verificou nenhuma diferença significativa na expressão de Cell do material transformado (evento H421) face à baixa expressão do gene.

De acordo com os dados mostrados no dossiê, e em conformidade com o esperado para a transformação com os genes inseridos, a variedade transformada do eucalipto não apresenta



alterações de comportamento exceto um crescimento acelerado, em função da expressão do gene *cell*, e resistência a certos antibióticos do grupo da neomicina, devido à expressão do gene *nptII* (que só altera o comportamento da planta em laboratório, no processo de seleção dos transformantes).

O presente eucalipto terá o mesmo uso do eucalipto convencional. As áreas de plantio deverão ser as mesmas que mostram aptidão para a cultura

De acordo com o que determina a Lei 11.105/2005, a CTNBio tem por incumbência avaliar os riscos que os organismos geneticamente modificados possam apresentar ao meio ambiente, à biodiversidade e à saúde humana e animal. Neste sentido, os alvos de proteção amplos designados pela Constituição Federal estão contemplados na lei. Cabe à CTNBio identificar que constituintes do ambiente podem ser afetados pelo organismo em análise e, a partir disso, desenvolver hipóteses de risco e concluir sobre a segurança do produto. Para tal os guias de avaliação de risco da Convenção de Biodiversidade (<http://www.cbd.int/doc/meetings/bs/mop-06/official/mop-06-13-add1-en.pdf>) e do *Office of the Gene Technology Regulator* (OGTR) da Austrália (<http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/raffinal5-toc>) são de grande valia e complementaram a abordagem prescrita na Resolução Normativa 05 da CTNBio.

O eucalipto geneticamente modificado evento H421 vem sendo avaliado em contenção desde sua obtenção e a campo no Brasil, sob liberações planejadas no meio ambiente aprovadas pela CTNBio, desde 2006, demonstrando que sob manejo adequado e cultivo intensivo produz madeira tanto para a produção de biomassa para energia como para a produção de fibras.

Experimentos foram instalados em quatro regiões do Brasil onde existe potencial de plantio deste eucalipto: Angatuba/SP, Araraquara/SP, Caravelas/BA e Passagem Franca/PI. Nestas regiões comparou-se o evento H421 com o eucalipto convencional SP530. Os experimentos foram instalados com seis repetições em cada campo e foram avaliados em ciclos de 2 a 3 anos quando destinados a produção de biomassa para energia e entre 5 e 7 anos para a produção de celulose e papel. Além das avaliações de desempenho e manejo, nestes

experimentos foram feitas análises de risco ambiental para instruir o pedido de liberação comercial.

III. Aspectos relacionados à Saúde Humana e dos Animais

O eucalipto geneticamente modificado evento H421 da Futuragene apresenta maior produção de madeira graças ao gene *cell* isolado de *Arabidopsis thaliana*, que codifica a expressão da enzima 1,4-β-endoglucanase (Cell), uma glicosil hidrolase que se liga à celulose não cristalina e às xyloglucanas, promovendo o relaxamento da parede celular durante as fases de expansão e alongamento da célula vegetal. A proteína Cell é um polipeptídeo de 492 aminoácidos, com um peso molecular estimado de 54 kDa.

O evento apresenta também o gene *nptII*, que codifica a proteína NPTII (neomicina fosfotransferase tipo II), de 52 kDa, que tem ação de resistência sobre a ação de antibióticos como a neomicina e a canamicina. A enzima NPTII é uma proteína de *E. coli* modificada. O gene *nptII* utilizado em transformação de plantas é derivado do transposon Tn5 de *Escherichia coli* (Beck *et al.*, 1982), uma enterobactéria presente na flora intestinal do homem. A proteína NPTII é produzida por vários microrganismos procarióticos encontrados de forma ubíqua no meio ambiente, tanto em habitats aquáticos e terrestres, como na microflora intestinal humana e animal. O modo de ação da proteína NPTII é bem caracterizado e culmina com a inativação de antibióticos aminoglicosídicos como a neomicina, a gentamicina A, a paromicina e as canamicinas A, B e C. A proteína NPTII é degradada no sistema gastrointestinal de humanos e animais. O uso de genes marcadores de seleção, como o gene *nptII*, é essencial para selecionar as células transformadas no processo de modificação genética (Horsch *et al.*, 1984; DeBlock *et al.*, 1984).

As análises moleculares (Southern blot, sequenciamento e PCR) demonstram a inserção de cópia única dos cassetes de expressão dos genes *cell* e *nptII* no genoma do eucalipto, confirmada pelo padrão de segregação mendeliano em progênies. O sequenciamento do evento H421 mostrou que as construções presentes no vetor foram preservadas na transformação e que não houve disrupção de gene ou estrutura de expressão no genoma do

eucalipto parental. A estabilidade do DNA integrado foi demonstrada pela técnica de PCR, na qual as construções inseridas no DNA do eucalipto H421, bem como suas regiões de inserção, foram mantidas nas progênie testadas, obtidas em cruzamentos controlados com diferentes espécies e variedades comerciais convencionais.

Estudos demonstraram que houve a inserção de uma única cópia funcional dos cassetes de expressão dos genes *cell* e *nptII*, em um único locus no genoma do eucalipto.

As proteínas expressas no eucalipto H421 não apresentam histórico de atividades tóxicas sobre outros organismos. A avaliação *in silico* do potencial de toxicidade e alergenicidade junto a bancos de dados reconhecidos não indicam que as proteínas Cell e NPTII tenham similaridade ou homologia com alérgenos ou toxinas conhecidas.

Os níveis de expressão das proteínas em tecidos das plantas (tecidos de cultura, folhas jovens e maduras, ramos, raízes, grãos de pólen) bem como em produtos de abelhas melíferas (mel, bolotas de pólen) mostraram-se bastante baixos. A concentração de endoglucanases nas folhas jovens do evento H421 foi de 27,4 µg/g de tecido fresco, contra 22,67 µg/g de tecido fresco no clone convencional SP530. Nas folhas maduras as endoglucanases apresentaram concentração de 18,87 µg/g de tecido fresco no eucalipto H421 e de 22,33 µg/g de tecido fresco na isolinha convencional nas folhas maduras. As médias das quantidades de proteína NPTII expressa (em ng/g de tecido fresco) foram de 5,3 ng/g em pólen, 16,7 em folhas jovens, 22,2 em folhas maduras e 27,2 em raiz.

IV. Segurança à Saúde Humana e Animal

O eucalipto é uma espécie arbórea que não apresenta histórico de uso na alimentação no Brasil ou em outros países, na forma direta ou de maneira processada, não sendo consumido por humanos ou animais que sirvam de alimento ao homem ou a outros animais domesticados.

O organismo doador do gene *cell*, *Arabidopsis thaliana*, não é uma espécie que tenha evidências de ser patogênica ou tóxica para humanos ou animais e não é comumente alergênica, não justificando a realização de testes analíticos ou toxicológicos. *Arabidopsis* se tornou planta modelo para estudos de genética e desenvolvimento vegetal ao ter seu genoma inteiramente sequenciado, sendo um gênero da família Brassicaceae, que inclui espécies cultivadas e consumidas na alimentação humana como a couve, o brócolis e o rabanete, alimentos com histórico de uso seguro.

A proteína Cell é encontrada, em formas muito similares e com grande identidade, em um bom número de alimentos consumidos de forma crua (pepino, morango, tomate, uva, maçã) ou com diferentes processamentos (cacau, soja, milho), por humanos e animais. Adicionalmente, algumas hidrolases, como as β -glucanases de *Aspergillus niger* e de *Bacillus subtilis*, têm sido utilizadas há tempos no processamento alimentar e são incluídas em alimentos; efeitos negativos não têm sido documentados (Pariza and Foster, 1983, in Franck-Oberaspach e Keller, 1997).

O gene *neo* (ou *nptII*) e seu produto, a enzima NPTII, tem sido largamente usada como marcador de seleção para transformação de células humanas, animais e vegetais e para experimentos de terapia gênica em humanos. A proteína não apresenta qualquer efeito tóxico a seres vivos, é naturalmente presente no ambiente e encontrada em microrganismos em alimentos ou que colonizam o sistema digestivo humano (Fuchs *et al.*, 1993). A Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (European Food Safety Authority - EFSA), A Autoridade Australiana para Segurança Alimentar (Australian Food Safety Authority - OGTR) e a Agência para Alimentos e Medicamentos (Food and Drug Agency - FDA) dos Estados Unidos concluíram que o uso do gene *nptII* como marcador de seleção em plantas geneticamente modificadas - GM (e alimentos ou rações derivados destas) não representa risco à saúde humana ou animal nem ao ambiente. A CTNBio já aprovou liberações comerciais de eventos contendo este mesmo gene marcador de seleção.

As avaliações de risco foram realizadas no Piauí, na Bahia e em São Paulo. As análises de composição centesimal demonstram equivalência bromatológica entre tecidos do eucalipto

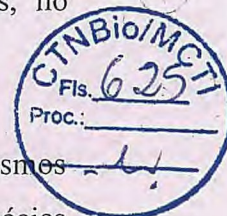


H421 e do eucalipto convencional. As avaliações fenotípicas e das interações ecológicas do eucalipto H421 mostraram que este evento geneticamente modificado não tem potencial diferente de seu equivalente convencional para ser uma planta invasora, ou mesmo disseminar ou perpetuar seus genes ou para impactar outros organismos, vegetais ou animais, no ambiente.

As análises de toxicidade conduzidas pela exposição a folhas e pólen com organismos indicadores mostraram que o eucalipto H421 não causa efeitos adversos sobre espécies aquáticas, como peixes (*Danio rerio*) ou microcrustáceos (*Daphnia similis*), e terrestres como minhocas e microrganismos, bem como a abelhas melíferas (*Apis*) e diferentes espécies de abelhas nativas sem ferrão, proporcionando a estas espécies as mesmas condições de exposição ao cultivo do eucalipto convencional. A avaliação da toxicidade em abelhas foi realizada a 400 m, 1 km e 85 km dos locais de cultivo.

As análises físico-químicas dos méis produzidos em área com árvores GM e em área com árvores convencionais não apresentaram diferença significativa para nenhum dos parâmetros. O conteúdo de proteína total dos méis analisados, tanto o oriundo da área com árvores transformadas (0,43 %) como da área convencional (0,33 %) são bastante baixos, sendo somente uma parte desta relativa à presença do pólen nos méis. A concentração da proteína Cell expressa no evento H421 em mel e em bolotas de pólen é tão baixa que os métodos de detecção disponíveis para sua medição não puderam quantificá-las. Para a enzima NPTII as concentrações encontram-se entre os níveis mais baixos encontrados, quando comparadas com outros tecidos da planta como folhas, raízes e pólen. Uma observação julgada pertinente é a de que o homem e os animais não absorvem proteínas, mas sim os aminoácidos, e portanto preocupações quanto a efeitos tóxicos do consumo das proteínas do transgene em tão ínfima quantidade são infundadas.

Outro conceito que podemos introduzir aqui é o do TTC, Treshold of Toxicologic Concern. Este conceito, encontrado em detalhes em Kroes et al., 2004, vem sendo utilizado pela Comunidade Europeia, mais especificamente pelos seguintes comitês: Scientific Committee



on Consumer Safety (SCCS), Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER), Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR). Pelo conceito de TTC, substâncias presentes nos alimentos podem ser consideradas seguras até as seguintes doses:

- 1.5 µg/indivíduo/d: Treshhold geral. Substâncias com teste de Ames positiva ou alertas estruturais devem ser avaliadas caso a caso.
- 15 µg/indivíduo/d: Threshold para substâncias químicas sem alertas estruturais para carcinogenicidade ou com resultados negativos em testes de mutagenicidade (Teste de Ames).
- 45 µg/indivíduo/d: Threshold para substâncias químicas sem alertas estruturais para carcinogenicidade ou com resultados negativos para testes de mutagenicidade (Teste de Ames) e LD50 (median lethal dose) >1,000 mg/kg peso corporal.

Considerando-se as quantidades ínfimas de proteínas de polen apresentadas no mel, podemos aplicar o TTC neste caso, de forma que não se considera necessário realizar o teste deste produto em animais.

As análises independentes realizadas no Projeto "Criação do CDA *Eucalyptus*: Centro Colaborador em Defesa Agropecuária para a Biossegurança Relativa a Plantas GM de Eucalipto", edital da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) do Ministério da Agricultura, da Pecuária e do Abastecimento (MAPA) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) do Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), entre dezembro de 2008 e junho de 2012, com o objetivo desenvolver ou adequar protocolos de avaliação, de diretrizes para comparação e de serviços de análise relacionados à biossegurança de plantas e derivados GM, reforçam as conclusões obtidas pela empresa na avaliação de biossegurança do eucalipto H421. Entre os resultados encontrados no Projeto, comparando derivados GM e não-GM (isolíneas parentais), podem ser destacados: (i) equivalência da composição em óleos essenciais de extratos foliares e de seus efeitos sobre fungos fitopatogênicos *in vitro*; (ii) demonstração da equivalência (de ausência) de efeitos tóxicos do mel e de extratos foliares sobre células de cólon humanas *in vitro* e sobre o desenvolvimento de larvas de abelhas (*Apis mellifera*), bem como sobre a anatomia de insetos adultos desta

espécie; (iii) estabelecimento de minicolônias de abelhas nativas em laboratório para testes de toxicidade de derivados (pólen e mel) de plantas GM e não-GM; (iv) demonstração da equivalência de amostras de mel produzidas em áreas de árvores GM e não-GM.

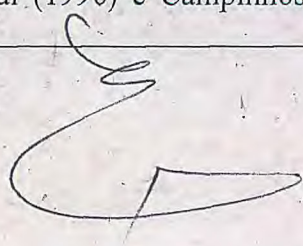
Frente aos dados encontrados no projeto, foi possível concluir que:

- o eucalipto evento H421 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 eucalipto, com todos os elementos genéticos intactos, e nenhuma região funcional do plasmídeo pBI121 presente no evento de transformação gerado;
- o eucalipto não é utilizado na alimentação de humanos ou animais, embora as proteínas inseridas são facilmente digeríveis;
- não há indícios de que as proteínas Cel1 e NPTII presentes no eucalipto H421 causem alergia ou intoxicação em humanos e animais;
- os níveis de expressão das proteínas exógenas expressas no evento H421 são extremamente baixos nos tecidos das plantas e indetectáveis em mel e bolotas de pólen de colmeias de abelhas;
- não foram identificados efeitos pleiotrópicos (efeitos múltiplos de um gene) ou epistáticos (quando a presença de um alelo inibe a ação de outro) no eucalipto H421, sendo observada somente a característica esperada de maior produção de madeira.

Diante destas considerações, conclui-se que do ponto de vista da saúde humana e animal o eucalipto evento H421 é tão seguro quanto seu equivalente convencional.

IV.1 Fluxo gênico e o mel.

Uma das preocupações levantadas durante a audiência pública, realizada para discutir o eucalipto H421, foi em relação à produção do mel, pois o eucalipto, segundo exposições na audiência, é a “principal fonte de néctar e pólen para a apicultura no Brasil”. Dois trabalhos na literatura apresentam estudos sobre o fluxo gênico do eucalipto, ou seja, sobre a distância que as abelhas podem levar o pólen: Pacheco et al (1996) e Campinhos et al (1998). No

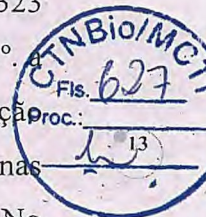


12

primeiro trabalho os estudos foram realizados até uma distância de 300 metros e concluem que a "*Apis mellifera* L. é efetiva em promover polinização cruzada em *E. saligna*, sendo maior a atividade até 100 metros de distância das colmeias, decrescendo gradativamente até a distância estudada de 300 metros". O segundo estudo utiliza aloenzimas como marcadores para estimar o grau de hibridação natural entre *Eucalyptus grandis* e *E. urophylla*. Foram encontrados genótipos não presentes nos clones do pomar de sementes, ou seja 14,4 % dos genótipos foram de eucalipto de origem de povoamentos localizados a 400 metros de distância da área de estudo. Extrapolção é o uso de modelos de regressão para estimar o valor da variável dependente (resposta) para valores da variável independente (explicativa) que estejam fora dos valores observados da variável explicativa. Isto leva a valores que não são confiáveis e algumas vezes ridículos (Larose & Larose, 2014). Mesmo usando a extrapolção do modelo de regressão do trabalho de Pacheco et al (1996) e de Campinhos et al (1998) as distâncias em que os fluxos gênicos são iguais a zero são de 756 e 467 metros respectivamente. O estudo realizado pela proponente avaliou o fluxo gênico até a distância de 1592 m, concluindo que na distância de 0 (zero) m, o fluxo determinado foi de 30,8 %. Este valor vai decaindo, de acordo com a distância; sendo observados 14,6 % a 10 metros, 13,1 % a 25 metros, 11,5 % a 50 metros, 11,2 % a 100 metros, 5,0 % a 200 metros, 5,4 % a 300 metros, 1,5 % a 400 metros, com a tendência de chegar a 0,0 % na distância de cerca de 600 metros. Este valor se aproxima dos extrapolados dos trabalhos publicados.

O Brasil exportou em 2013 cerca de 16 mil toneladas de mel e cerca de 78% deste total foi exportado para os Estados Unidos (ABEMEL, 2014). Há uma preocupação com a perda do valor comercial devido à presença de material transgênico no produto. O Art. 2 do Decreto 4680 de 24 de abril de 2003 define que na comercialização de alimentos e ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados, com presença acima do limite de um por cento do produto, o consumidor deverá ser informado da natureza transgênica desse produto.

Entretanto as análises realizadas no mel colhido em melgueiras dentro do plantio do eucalipto H421, a proteína Cel1 não foi detectada e o teor da proteína NPTII foi de 3,9 ng/g de mel, o que é muito inferior a 1% definido neste decreto para que o produto seja rotulado como



transgênico. Já a Lei 10.831 de 23 de dezembro de 2003, regulamentada pelo Decreto 6.323 de 27 de dezembro de 2007, que dispõe sobre a agricultura orgânica considera no artigo 1º a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados no sistema orgânico de produção agropecuária. As regulamentações sobre a produção do mel orgânico são definidas nas Instruções Normativas no. 46 de 6 de outubro de 2011 e no. 17 de 18 de junho de 2014. No artigo 8º, inciso IX da IN 46 é definido que o Plano de Manejo Orgânico deve contemplar medidas para prevenção e mitigação dos riscos de contaminação externa, incluindo OGM e derivados. Entretanto, a IN 17 no capítulo que trata da produção de mel, no artigo 21º, inciso V define que os sistemas orgânicos de produção de abelhas melíferas devem utilizar “apenas abelhas melíferas não geneticamente modificadas”. Consultando a 20ª Edição de agosto de 2014 das Diretrizes para o Padrão de Qualidade Orgânico IBD, órgão responsável por mais de 100 certificações de produtores de mel orgânico nos itens 4.2 e 4.3 define que somente poderão utilizar o selo “IBD CERTIFICAÇÕES Orgânico” em suas embalagens os produtos que contiverem, no mínimo, 95% de ingredientes de origem agropecuária orgânica certificados. Possuem condições especiais de rotulagem os produtos que utilizem em sua composição entre 95 e 70% de matérias primas orgânicas, no mínimo. Estes produtos poderão ter impresso no rótulo principal a frase “feito com ingredientes orgânicos”. O Comitê Setorial de Saúde Animal, da Junta Nacional de Padrões Orgânicos, órgão que recomenda ao Ministério de Agricultura dos Estados Unidos as normas a serem seguidas para a produção de mel, em documento de 27 de outubro de 2010 não restringe o uso de material transgênico. Portanto as preocupações levantadas na audiência pública sobre o destino do mel no Brasil não parecem ter fundamento.

Considerando que a probabilidade de concretização da rota aos possíveis danos é muito pequena e que o dano esperado é menor, pode-se concluir que o risco para as abelhas e produção de mel é negligenciável.

V. Aspectos Ambientais

Em todos os processos de liberação no ambiente os constituintes qualidade dos solos, qualidade da água (mas não sua abundância, que depende do uso humano), organismos

valorados na agricultura, espécies icônicas, espécies em extinção e espécies nativas com as quais o organismo geneticamente modificado possa produzir progênie fértil são tomados como representativos da biodiversidade. Deve-se ter em mente também o movimento transfronteiriço do OGM vivo, quando este possa afetar a biodiversidade do país receptor.

Para que estes constituintes, ainda bastante abrangentes, possam ser traduzidos em *pontos finais de avaliação*, indispensáveis ao estabelecimento e teste de hipóteses de risco, é preciso inicialmente extrair da biologia do eucalipto e da observação de alterações fenotípicas ligadas à transformação do evento os elementos que permitirão o descarte de certos constituintes representativos da biodiversidade. A biologia do eucalipto está convenientemente descrita pela OECD (2014), entre outros textos científicos de igual valor. Outros perigos podem ser derivados da percepção pública do risco e estão comentados ao longo do presente parecer.

O eucalipto é originário da Austrália, com alguns centros de diversidade secundária na Ásia. Não há espécies sexualmente compatíveis com o eucalipto no Brasil. A planta é polinizada por insetos e, embora o pólen possa ser transportado pelo vento, este não é o mecanismo de reprodução da espécie. Os insetos que polinizam o eucalipto no Brasil são predominantemente as abelhas, cujo raio de voo em geral não ultrapassa os 1.000 m. Cada planta madura é capaz de produzir uma grande quantidade de sementes, mas os eucaliptos são propagados comercialmente a partir de mudas seminais ou clonais e não por semeadura direta no campo.

Embora o eucalipto tenha certas características de planta invasora, ele em geral não se comporta como tal, inclusive no Brasil (Silva et al. 2011b). O híbrido empregado neste evento nunca foi relatado como invasor. Apenas a espécie *E. grandis* pode se comportar como invasora, mas não tem este padrão de comportamento no Brasil. Segundo o Comunicado Técnico 83 da Embrapa Florestas (Embrapa, 2002), o eucalipto foi introduzido no Brasil em 1904 com o objetivo inicial de suprir as necessidades de lenha, postes e dormentes das estradas de ferro da região Sudeste. Posteriormente, na década de 50 passou a ser usado também como matéria prima para a obtenção de celulose e papel, carvão vegetal e chapas de fibras ou partículas. Vale destacar que, após mais de 100 anos de cultivo em diferentes condições edafoclimáticas brasileiras, o eucalipto não se mostrou ser uma planta invasiva.

O eucalipto não é usado como alimento no Brasil e suas folhas, ramos e sementes também não são consumidos por animais protegidos da fauna brasileira. O mel elaborado por abelhas a

partir das flores de eucalipto é coletado e comercializado no Brasil, sendo também exportado. Ele pode conter pequenas quantidades das proteínas NPTII e Cell, dependendo da presença de pólen do evento transgênico. A inocuidade alimentar do mel foi avaliada pela CTNBio. A questão do impacto sobre insetos polinizadores implica na escolha de um ponto final de avaliação. Por sua abundância e importância na polinização de espécies comerciais, a abelha *Apis mellifera* foi tomada como ponto final de avaliação.

As áreas plantadas com eucalipto costumam ser cercadas ou margeadas por reservas legais e, em alguns casos com coleções de água de superfície. Parte do material vegetal proveniente das árvores de eucalipto e também exudatos podem chegar ao solo, ao subsolo ou em coleções de água próximas. Isto já ocorre nas plantações de eucalipto convencional e não há razão para se imaginar que a proteína Cell de *Arabidopsis thaliana*, presente em ínfimas quantidades nos tecidos da planta de eucalipto e, além disso, sendo conservada entre plantas, possa impactar negativamente na qualidade do solo e das águas. A proteína NPTII também deve ser prontamente degradada no ambiente e sua ação antimicrobiana só se faria sentir em concentrações elevadas em um ambiente rico em bactérias. A degradabilidade destas proteínas e seu impacto em vários organismos indicadores já foram estudados, particularmente para a proteína NPTII, inclusive pela proponente do evento.

Uma análise comparativa de degradação de biomassa foi realizada e não indicou diferença alguma na velocidade e quantidade de resíduos entre o eucalipto GM e sua contraparte convencional.

A requerente apresentou estudos de espécies indicadoras tais como duas espécies aquáticas (peixes e Daphnia), um decompositor de solo (minhocas), microrganismos e espécies de insetos benéficos (como abelhas melíferas e nativas sem ferrão). Estudos de composição do mel não mostraram diferenças significativas como também não se encontrou nenhuma diferença na composição de colônias, sendo portanto improvável que as proteínas inseridas causem algum impacto nestes insetos, conforme já relatado sobre a expressão, quantificação e efeitos da proteína.

É importante destacar que a requerente forneceu material vegetal para diversos laboratórios independentes, pertencentes ao projeto "CDA Eucalyptus: Centro Colaborador em Defesa

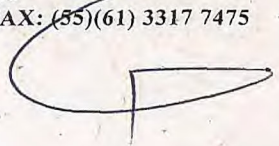
Agropecuária para a Biossegurança Relativa a Plantas GM de Eucalipto”, patrocinado pelo MAPA, MCTI e CNPq, que aportaram dados sobre:

- demonstração de equivalência morfológica e anatômica de pólen, sementes, flores e frutos; da germinação de pólen e sementes e do desenvolvimento de plântulas;
- equivalência da composição em óleos essenciais de extratos foliares e de seus efeitos sobre fungos fitopatogênicos *in vitro*;
- demonstração da equivalência (de ausência) de efeitos tóxicos do mel e de extratos foliares sobre células de cólon humanas *in vitro* e sobre o desenvolvimento de larvas de abelhas (*Apis mellifera*), bem como sobre a anatomia de insetos adultos desta espécie;
- estabelecimento de minicolônias de abelhas nativas em laboratório para testes de toxicidade de derivados (pólen e mel) de plantas GM e não-GM;
- demonstração da equivalência bromatológica de amostras de mel produzidas em áreas de árvores GM e não-GM;
- definição de condições para a detecção de amostras GM por PCR e qRT-PCR;
- início de estudos comparativos de transcritômica e proteômica com vistas a determinar a equivalência em transcritos e peptídeos em folhas e ramos de *Eucalyptus* GM e não-GM.

Nenhum efeito negativo foi observado. Tendo como base as características do evento, a biologia do eucalipto e o uso pretendido da variedade GM, podemos concluir que o único alvo de proteção que poderia sofrer um impacto direto do OGM diferente do impacto causado pela variedade convencional é o polinizador. Conforme demonstrado, as proteínas inseridas, sua degradabilidade e efeitos, quantificação nos tecidos da planta e mel, evidenciaram que o evento H421 não possui nenhum efeito identificável em *Apis mellifera*.

VI. Audiência Pública

Durante realização de audiência pública, vários outros perigos foram trazidos pela percepção de atores no cenário brasileiro e internacional. A maior parte dos perigos não tem relação com





o impacto direto do OGM, mas supostamente com a monocultura ou com a tecnologia associada ao evento.

Dentre os diversos pontos apresentados nas explanações, foi abordado o fato da possibilidade de um gene que determina aumento de produtividade da madeira tenha efeito sobre o metabolismo vegetal. É importante enfatizar que após a avaliação do evento por muitos anos é possível dizer que as modificações são insignificantes e, sobretudo, que nenhuma alteração nas características ligadas ao comportamento da planta foi observada, sendo um fator importante o qual é observado durante a fase de seleção dos eventos elite para liberação comercial, a exemplo do que ocorre com os eventos elite obtidos por melhoramento genético clássico.

Outro ponto abordado foi o fato de que os ensaios apresentaram ausência de diferencial competitivo (e portanto invasividade). Sendo assim, foi manifestada a preocupação da capacidade de germinação e estabelecimento de plantas espontâneas, voluntárias, oriundas do H421 e seu isogênico. Questionou-se se houve desprezo a capacidade de desenvolvimento superior do H421, após estabelecido (característica diretamente relacionada à competitividade) e se havia dados de que o H421 não é mais competitivo. Em resposta a este questionamento, destacou-se que a invasividade é dependente de uma série de características da planta, mas entre elas não está o crescimento rápido. Embora uma planta com crescimento mais rápido possa ser mais competitiva, ela necessita primeiramente ter um potencial invasivo, o que não é o caso do eucalipto híbrido em análise. É importante destacar que nenhuma das características botânicas do eucalipto foi modificada, portanto seu modo de reprodução e comportamento fenológico permanecem inalterados. Dois ensaios sobre invasividade de eucalipto pelas sementes produzidas em plantios comerciais foram publicados (Silva et al, 2011a e Silva et al 2011b). O primeiro ensaio foi realizado em 18 regiões onde o eucalipto é plantado (MG, SP, RS e ES). O resultado mostra que no interior do talhão e no carreador adjacente, ou seja, a até 10 m de distância do talhão, o número de plântulas encontradas foi de 37 a 157 respectivamente. Os autores concluem que apesar de germinarem, as plântulas de eucalipto aparentemente não se estabelecem nas condições encontradas nos plantios comerciais. Além disso, o sistema de manejo adotado, mantendo roçado o interior e os carreadores, assim como a rotação utilizada impedem este estabelecimento. O outro

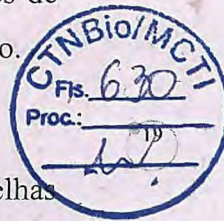
trabalho publicado estuda a invasividade das sementes do eucalipto comercial em fragmentos de florestas nativas, semeadas artificialmente com *Eucalyptus grandis* ou um híbrido de *E. grandis* e *E. urophylla*. Aos 270 dias após a semeadura nenhuma plântula de eucalipto foi observada nos três sítios estudados. A proponente também realizou um estudo relatado no dossiê apresentado, em duas áreas sob Liberação Planejada no Meio Ambiente, localizadas em Angatuba, SP e Caravelas, BA. Este estudo mostra que não houve diferença significativa entre a porcentagem de germinação das sementes do eucalipto H421 e o eucalipto convencional em condições de campo. Os ensaios mostrados pela proponente foram conduzidos em regiões importantes da cultura. Em face à inexistência de alterações do comportamento fenológico do eucalipto geneticamente modificado, seu impacto nos ecossistemas brasileiros não diferirá do eucalipto convencional.

Foi abordado a transformação da qualidade da madeira, para maior teor de celulose versus produtividade para produção de celulose. Questionou-se se os dados gerados servem para embasar o pedido de liberação comercial do H421. Também foi perguntado se há experimentos importantes a serem finalizados e se estes poderiam comprometer a tomada de decisão. Foi esclarecido que os dados trazidos pela proponente e a informação disponível previamente sobre o eucalipto, os genes empregados e sua segurança são suficientes para uma decisão baseada em ciência. Entre os dados trazidos pela empresa estão resultados extraídos das liberações planejadas, embora algumas não tenham sido concluídas no momento da submissão do dossiê. A consistência dos dados, contudo, foi avaliada, focando principalmente os dados relativos ao impacto em abelhas, sendo estes importantes para subsidiar a avaliação dos riscos a um alvo de proteção que pode efetivamente ser impactado. Os demais subsidiam a hipótese, plenamente satisfeita, de que não existem efeitos não antecipados derivados da transformação deste evento.

É importante destacar que durante a Conferência das Partes da Convenção da Diversidade Biológica – COP-9 (Decisão IX-5), acordou-se entre as partes que o uso de árvores transgênicas deveria ser aprovado após estudos baseados em ciência, observadas as



legislações nacionais. O Brasil, neste quesito, cumpriu os termos do acordo, pelos testes de campo realizados e pelos ensaios em laboratório, considerando o uso proposto do eucalipto.



Foi abordado sobre o efeito do *npt II* nas bactérias presentes tanto no trato intestinal de abelhas como dos humanos (no consumo do mel). Destacou-se que em outros países os antibióticos são regulamentados para uso no controle de doenças em abelhas. No Brasil, ainda eles não são permitidos. Entretanto, a presença destas substâncias nas colmeias, poderia selecionar doenças resistentes, o que poderia ser uma tragédia no futuro se uma doença muito grave se tornar epidêmica, porque o controle será muito mais difícil. Conforme demonstrado, os antibióticos para quais a proteína NPTII possui efeito não estão em uso clínico. Além disso, a proteína é facilmente degradada e expressa em quantidades ínfimas nos tecidos vegetais.

Outro ponto discutido na autidência referiu-se ao tempo ideal para se concluir que não há interações negativas ou indesejáveis. Antes mesmo de iniciar experimentos e inferir sua duração, é indispensável fazer uma avaliação de risco. As avaliações de risco antecederam todas as liberações planejadas e em parte forneceram dados para a avaliação de risco para a liberação comercial. Considerando que o único perigo concreto a um alvo de proteção representativo da biodiversidade é representado pelo consumo de pólen GM pelos polinizadores, o tempo para a conclusão sobre riscos pode ser pequeno e foi, de fato, extrapolado neste caso. Contudo, a segurança das proteínas inseridas, o contexto de uso do eucalipto e os dados analisados até agora permitem uma conclusão sobre o emprego deste vegetal.

Também abordou-se o fato se os testes foram feitos de forma adequada para permitir afirmar que não existem interações negativas em abelhas e na presença do pólen contendo material OGM. Esta informação é relevante considerando que foi detectado três vezes mais proteína Cell no pólen que nos demais tecidos. É importante destacar que a quantidade de proteína por grama foi calculada com tecidos de diferentes graus de umidade. Além disso, a quantidade real de proteína à qual uma abelha possa estar exposta via pólen é diminuta, uma vez que a

massa total de pólen que é ingerida é muito pequena comparada com a massa de néctar ou com a massa da abelha. Além disso, a proteína Cell é ubíqua e uma das suas várias isoformas seguramente já está presente no pólen de plantas que fazem parte da dieta das abelhas. Por fim, o mais importante é que esta proteína está em quantidades tão pequenas na planta adulta que não pode ser detectada.

Adicionalmente, levantou-se o ponto de que não foram realizados estudos em animais (camundongos e ratos) para fins de avaliação da estabilidade à digestão e dos possíveis efeitos (cito)tóxicos, mutagênicos e teratogênicos. Considerando que se trata de liberação comercial de um transgênico inédito. É importante destacar que o eucalipto não é empregado como alimento por animais silvestres protegidos ou icônicos, a questão da inocuidade alimentar perde o sentido na avaliação nutricional, restando apenas o impacto sobre as abelhas. Foi excluído também, por ser altamente improvável, o impacto sobre os animais consumidores de mel em colmeias não manejadas, dentro e fora da área de plantio. A proteína NPTII já foi extensamente avaliada e há razões robustas para se descartar qualquer risco não-negligenciável advindo desta proteína à saúde humana ou animal, nas concentrações em que aparece nas dietas típicas. A proteína Cell, como mencionado, está em quantidades não detectáveis na planta adulta e vários outros vegetais consumidos. No mais, estas proteínas já estão distribuídas na natureza, sem registro de efeitos adversos do consumo das mesmas.

Outro fato relevante discutido na audiência pública foi a possibilidade do aumento na utilização da água e agroquímicos em virtude da diminuição do ciclo de corte em dois anos. Ressaltou-se que o tempo de corte é uma questão que está relacionada à tecnologia e ao manejo da plantação, não tendo relação com o impacto direto do OGM no solo. A respeito de um possível consumo mais rápido de água pelas plantas, se houver, mas não há razão alguma para se esperar que seja um aumento considerável.

Segundo Lima et al (2012) há evidências de que o aumento da taxa de crescimento de plantações florestais aumenta o consumo de água. A magnitude deste possível impacto é



muito dependente do clima e solo nos locais de plantio. Para aliviar este impacto recomenda-se o uso de estratégias de manejo florestal. Entre elas, segundo os autores, produzem efeitos encorajadores, o espaçamento adequado e a porcentagem de ocupação da microbacia hidrográfica, assim como a inclusão deliberada de áreas críticas como proteção. Nos resultados apresentados para dar suporte as suas conclusões, dividem a quantidade de água da precipitação atmosférica anual em microbacia reflorestada com eucalipto, em duas partes, uma parte que chamam de produção anual de água (Q) e a outra parte, a evapotranspiração na escala da microbacia hidrográfica. Portanto a água da precipitação atmosférica tem dois destinos, os cursos d'água e a atmosfera. Como qualquer outro ecossistema, agrícola ou florestal, a água não desaparece e sempre será reaproveitada.

A respeito dos herbicidas, deve haver uma diminuição de uso, uma vez que as plantas crescem mais rápido, sombreiam o solo e podem produzir e acumular mais rapidamente substâncias inibidoras do crescimento de plantas competidoras (alelopatia), reduzindo o período em que as práticas de controle são necessárias. Esses aspectos se relacionam diretamente com o manejo da cultura e não com a segurança do OGM. É importante destacar que esta tecnologia não está voltada para tolerância a herbicidas.

O programa de melhoramento genético convencional do eucalipto já obteve clones com produtividade similares ao do eucalipto geneticamente modificado. Isso se deve ao fato de que o clone empregado para a transformação tem cerca de 10 anos de existência, sendo os clones mais modernos significativamente mais produtivos. Portanto, o consumo de água para esta cultura geneticamente modificada não difere do consumo de qualquer plantio de jardim clonal.

Alguns participantes argumentaram que os estudos também não apresentam confiabilidade científica no argumento de crescimento volumétrico da madeira em 20% com o H421, pois a média das amostras foi nivelada por cima, mas a variação se apresentou entre 6-20%, em diferentes locais e situações e também se não há variedades de clones pesquisadas hoje que apresentam este incremento, sem a necessidade da transgenia. O ganho efetivo de produtividade será avaliado depois da liberação comercial e nada tem a ver com os aspectos de risco. É importante salientar que esta tecnologia poderá ser aplicada no futuro a clones elites, com produtividade similar ou até superior às taxas de crescimento encontradas.

Todavia este aspecto se relaciona com o manejo florestal da cultura e não com a segurança do OGM, alvo de avaliação da CTNBio.

VII. Determinação de exposição e dano para os perigos identificados.

Tendo em vista que apenas o impacto sobre polinizadores é um perigo real e diretamente relacionado com o alvo de proteção reconhecido pela Constituição do país (a biodiversidade incluindo a proteção a insetos benéficos ao agroecossistema, etc), este parecer considera abaixo os elementos indispensáveis para a classificação do risco, de acordo com os procedimentos internacionalmente acordados, a saber: a exposição ao perigo e a classe (ou magnitude) do dano. O parecer também elabora uma rota ao dano, levando do hipotético perigo da ingestão de pólen transgênico pelas abelhas até um dano a indivíduos, colmeias ou populações. Independente desta rota, os resultados contidos no dossiê deixam claro que não há qualquer impacto negativo do pólen GM sobre as abelhas.

Todos os dados moleculares indicam que o evento em questão possui apenas uma cópia do inserto que também está presente no pólen. O construto é constituído de:

(1) a sequência codificadora do gene *nptII* de *Escherichia coli*, que é direcionada por um promotor NOS e a sequência de finalização da transcrição e poliadenilação derivada da sequência de terminação 3' da nopalina sintase (nos) de *Agrobacterium tumefaciens*;

(2) a sequência codificadora do gene *cell* de *Arabidopsis thaliana*, que é direcionada pelo promotor do Vírus da Faixa das Nervuras do Morangueiro – em inglês *Strawberry Vein Banding Caulimovirus* - SVBV, e a sequência de finalização da transcrição e poliadenilação derivada da sequência de terminação 3' da nopalina sintase (nos) de *Agrobacterium tumefaciens*. Esse T-DNA foi inserido no genoma do eucalipto por transformação com *Agrobacterium tumefaciens*, para expressão dos genes *cell* e *nptII*, resultando na síntese das proteínas Cell e NPTII.

As abelhas transportam pólen para as colmeias de várias formas. O pólen pode também ser transportado para as colmeias pelo vento. Entretanto, o pólen não é um alimento para as



abelhas, sendo ingerido junto com o néctar ou o mel. A massa de pólen à qual uma abelha pode ser exposta é muito pequena. Consequentemente, a quantidade de proteínas Cell e NPTII que pode estar presente na dieta da abelha é ainda várias ordens de grandeza menores. A própria proteína Cell está amplamente distribuída nos vegetais e, portanto, com histórico de contato com humanos e animais, sobretudo pelo consumo de plantas *in natura*. Assim, no primeiro passo da rota ao dano podemos admitir que a probabilidade de que a abelha seja exposta a quantidades significativas das proteínas é muito pequena. A proteína NPTII é de origem microbiana e determina resistência a antibióticos, por isso a ênfase na análise de risco da mesma.



No segundo passo da rota cabe criar uma hipótese plausível de como esta proteína se comporta no trato digestivo da abelha. Assim como o próprio pólen, o mais provável é que ela seja prontamente digerida, o que de fato ocorre com a maioria das proteínas ingeridas pelo inseto, cujo trato digestivo é rico em proteases. Então, a probabilidade de que esta proteína chegue a se distribuir, na forma ativa, na maior parte do trato digestivo, é muito remota.

No terceiro passo da rota cabe questionar por qual mecanismo a enzima NPTII poderia impactar negativamente a abelha. Não há relatos na literatura de que esta enzima impacte o epitélio do trato digestivo de nenhum organismo, mas ela pode inibir a ação de algum antibiótico que pudesse ser importante no manejo das abelhas em apiário. É importante lembrar que a enzima não tem ação antibiótica e não mata bactérias. A quantidade da proteína remanescente da digestão proteolítica no trato digestivo não deve ser suficiente para inibir a ação de antibióticos propositalmente adicionados à dieta das abelhas em apiários. Assim, a probabilidade de que concentrações inibitórias de NPTII estejam presentes no trato digestivo das abelhas que venham a pastar em flores de eucalipto GM é, também, muito reduzida.

No quarto passo, é intuitivo perguntar porque o apicultor usaria o antibiótico que, ainda que numa probabilidade muitíssimo baixa, poderia ser inibido pela presença da NPTII. Assim, a probabilidade de que ele empregue neomicina ou outro antibiótico que pudesse ser inibido pela NPTII é, naturalmente, muito pequena. Deve-se lembrar que a neomicina e a canamicina não são empregados para tratamento de bacterioses em apiários, e sim primariamente a oxitetraciclina e, mais raramente, alguns aminoglicosídeos, anfenicóis e sulfonamidas

(Monteiro et al., 2010). A probabilidade de que toda a rota se concretize é, portanto, muito remota.

Cabe agora avaliar a extensão do dano. Caso todos os passos ocorram e o apicultor não consiga controlar uma eventual infecção bacteriana de suas abelhas, ele iria perder suas colmeias. O mesmo não aconteceria nas demais colmeias. Assim, o dano estaria restrito a poucas colmeias previamente afetadas por uma bacteriose. Um dano que não afeta uma população (neste caso estará restrito a algumas caixas de um apiário) é considerado menor.

Rotas ao dano semelhantes a esta poderiam ser estabelecidos para artrópodos não-alvo, solo, água, microrganismos benéficos, ou outros alvos de proteção, caso houvesse uma suspeita baseada em ciência que pudesse concretizar o perigo em dano. Mais uma vez, os dados mostrados no dossiê sugerem fortemente que não há impactos no solo, nas águas e na microbiota e biota diferentes daqueles que possam ser causados pelos eucaliptos convencionais.

Uma hipótese de risco que tem sido levantada considera a transferência horizontal do gene *nptIII* para bactérias. Neste caso, a transferência seria para as bactérias da microflora do tubo digestivo da abelha. Esta hipótese, entretanto, contraria o que se sabe da biologia das plantas e microrganismos e, sobretudo, o que se sabe da organização e expressão de genes nestes grupos de seres vivos. A probabilidade de transferência de genes funcionais a partir de plantas em microrganismos é extremamente baixa, como mostrado há mais de 20 anos por Fuchs et al. (1998). Não é de surpreender que a transferência de um marcador de resistência a antibióticos de plantas geneticamente modificadas para bactérias não foi observada em condições naturais (EFSA, 2007). A conclusão idêntica chegou o OGTR (OGTR, 2012), Petersen et al (2014) e muitos outros.

VIII. Restrições ao uso do OGM e seus derivados

A requerente apresentou a caracterização molecular do inserto com mapa detalhado do vetor. A avaliação da herança genética dos genes inseridos mostrou uma segregação normal, sendo que as plantas segregantes apresentaram fenótipo normal em todos os casos analisados.

Efeitos pleiotrópicos e epistáticos não foram constatados nos ensaios com o evento modificado resultante da inserção dos genes.

A Empresa atendeu plenamente, em diversos níveis, as exigências de ensaios de biossegurança nacionais e padronizados internacionalmente para a correta caracterização de inocuidade do transgene.

Com base nestas informações, disponíveis na literatura, apresentada no pedido de liberação comercial, observa-se que os riscos de cruzamento são baixos e, em havendo, os danos esperados são negligenciáveis. Além disso, os ensaios realizados pela empresa revelaram que o evento introduzido não altera de forma alguma a relação desta planta com a biota, quando comparada com seu parental. No tocante ao meio ambiente, concluiu-se que o eucalipto evento H421 não é potencialmente causador de significativa degradação do meio ambiente ou de agravos à saúde humana e animal, guardando com a biota relação idêntica ao eucalipto convencional. As restrições ao uso do OGM em análise e seus derivados estão condicionadas ao disposto na Lei 11.460, de 21 de março de 2007.

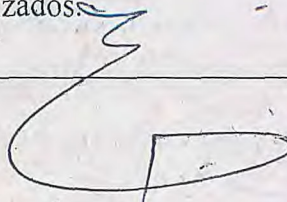
IX. Considerações sobre particularidades das diferentes regiões do País (subsídios aos órgãos de fiscalização)

Conforme estabelecido no art. 1º da Lei nº 11.460, de 21 de março de 2007, “ficam vedadas as pesquisa e o cultivo de OGM nas terras indígenas e áreas de unidades de conservação, exceto nas Áreas de Proteção Ambiental”

A modificação genética introduzida não altera as características botânicas da planta, de forma que o eucalipto se comporta como seu contraparte convencional em condições de cultivo, exceto pela característica inserida.

X. Conclusão

Considerando que a espécie eucalipto é uma planta bem caracterizada e com sólido histórico de segurança para homens e animais e que os genes introduzidos nessa variedade não evidenciaram efeitos adversos, segundo os testes realizados.



Considerando que dados de composição centesimal não apontaram diferenças significativas entre as variedades geneticamente modificadas e as convencionais, sugerindo a equivalência entre elas.

Considerando ainda que:

1. As proteínas inseridas estão presentes em plantas e microrganismos e vários mutantes naturais, portanto, homens e animais, há muito tempo, possuem histórico de exposição às mesmas.
2. a análise molecular evidenciou que a integridade e estabilidade do inserto foi mantida.
3. a análise de segregação e padrão de herança genética são estáveis;
4. as avaliações agrônomicas indicaram que a inserção não levou a expressão de qualquer outra características que não aquela esperada
5. as proteínas inseridas não apresentaram diferenças nutricionais, imunológicas e histológicas, caracterizado a inocuidade da transformação realizada e a segurança do emprego no eucalipto. Foram descartados também possíveis efeitos alergênicos pela introdução dos genes escolhidos, seja pelo histórico de uso deles em diversas transformações, seja pela análise *in silico* dos peptídeos expressos.
6. As evidências obtidas com os estudos experimentais e observacionais indicam semelhança entre o eucalipto geneticamente modificado e seu contraparte convencional, nos aspectos toxicológico, alergênico e nutricional (considerando o pólen e abelhas). Não há evidência de qualquer risco toxicológico, indicando que a única consequência da modificação introduzida por manipulação genética com introdução dos genes descritos foi o aumento volumétrico da madeira.

Diante do exposto e considerando os critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco de matérias-primas geneticamente modificadas é possível concluir que o eucalipto é tão seguro quanto o eucalipto 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 as legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente,



agricultura, saúde humana e animal, e concluiu que o eucalipto é substancialmente equivalente ao eucalipto convencional. No tocante ao meio ambiente, concluiu a CTNBio que o eucalipto, evento H421 não é potencialmente causador de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica ao eucalipto convencional.

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.

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

XI. Bibliografia

Campinhos EN, Peters-Robinson I, Bertolucci FL, Alfenas AC (1998) – Interspecific hybridization and inbreeding effect in seed from a *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* clonal orchard in Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, vol. 21, no. 3, p 1-8.

EFSA (2007) - Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. doi:10.2903/j.efsa.2007.74

EMBRAPA (2002) – Comunicado Técnico 83: Produção e Rentabilidade do Eucaliptos em Empresas Florestais (disponível em http://www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/com_tec83.pdf)

Franck-Oberaspach, S. L.; Keller, B. 1997. Consequences of classical and biotechnological resistance breeding for food toxicology and allergenicity. *Plant Breeding* 116 (1): 1–17, March 1997.

Fuchs RLI, Ream JE, Hammond BG, Naylor MW, Leimgruber RM, Berberich SA (1993) - Safety assessment of the neomycin phosphotransferase II (NPTII) protein. *Biotechnology (N Y)* 11(13):1543-7.

ISAAA (2014) - Gene: nptII. (consultado em 11/2014) - <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/gene/default.asp?GeneID=18>

Kroes R, Galli C, Munro I, Schilter B, Tran LA, Walker R, Würtzen G (2000). Threshold of toxicological concern for chemical substances in the diet: A practical tool for assessing the need for toxicity testing. *Food Chem Toxicol* 38: 255-312

Kroes R, Renwick AG, Cheeseman M, Kleiner J, Mangelsdorf I, Piersma A, Schilter B, Schlatter J, van Schothorst F, Vos JG, Würtzen G (2004). Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): Guidance for application to substances present at low levels in the diet. *Food Chem Toxicol* 42: 65-83

Kroes R, Renwick AG, Feron V, Galli CL, Gibney M, Greim H, Guy RH, Lhuguenot JC, van de Sandt JJ (2007). Application of the threshold of toxicological concern (TTC) to the safety evaluation of cosmetic ingredients. *Food and Chemical Toxicol* 45: 2533- 2562

LaroseDT , C. D. Larose CD (2014) - *Discovering Knowledge in Data: An Introduction to Data Mining*. 2a. Edição, John Wiley & Sons, Inc. 319pp.

Lima WP, Laprovitera R, Ferraz, SFB, Rodrigues, CB, Silva, MM (2012) - Forest plantations and water consumption: a strategy for hydrosolidarity. *International Journal of Foprestry Research*, Vol. 2012, Artigo ID 908465, 8p.

Monteiro GVTA, Santos HC, Guerreiro RS, Rêgo FLT (2010) - Avaliação da presença de resíduos de tetraciclina em amostras de mel comercializadas no estado da Bahia. *R. Ci. méd. biol.* 9(2):102-107

OECD (2014) - Consensus document on the biology of *Eucalyptus*, spp. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology no. 58. (disponível em [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2014\)27&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)27&doclanguage=en)).

OGTR (2012) - Risk Assessment Reference: Marker Genes in GM Plants. Acessado em 11/2014. (Disponível em <http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/marker-genes-ref-1-htm>)

Pacheco IA, Kageyama, PY, Wiendl FM, Berti Filho, E. (1996) - Estudo da dispersão de pólen de *Eucalyptus saligna* Smith por abelhas *Apis mellifera* L. utilizando-se o radiofósforo ³²P. *IPEF*, n. 34, p47-52.

Petersen W, Umbeck P, Hokañson K, Halsey M. (2005) - Biosafety considerations for selectable and scorable markers used in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) biotechnology. *Environ Biosafety Res.* 4(2):89-102.



Silva PHM, Poggiani F, Mori, ES, Dias, CTS, DiCiero, L (2011a) – Potencial de invasão de eucalipto pelas sementes produzidas nos plantios comerciais. Circular Técnica, IPEF, no. 203, p 1-7.

Silva PHM, Poggiani F, Sebbenn AM, Mori ES (2011b) - Can Eucalyptus invade native forest fragments close to commercial stands? Forest Ecol. Manag. **261**(11): 2075–2080.

The Arabidopsis Information Resource (2014) - Locus: AT1G48930 (consultado em 11/21/04). <http://www.arabidopsis.org/servlets/TairObject?type=locus&name=At1g48930>

SCCS, Comunidade Europeia, 2012

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_092.pdf



XI – Pedido de Vistas

O Dr. Paulo Kageyama, membro representante do Ministério do Desenvolvimento Agrário, solicitou vista do processo, com base em quatro pontos:

- i) Impacto do Eucalipto H421 na Hidrologia Silvicultural;
- ii) Fluxo gênico do Eucalipto H421 e potencial de contaminação;
- iii) Mel do Eucalipto H421 e alimentação humana;
- iv) Eucalipto H421 e a Não Certificação pelo FSC.

i) Impacto do Eucalipto H421 na Hidrologia Silvicultural;

Destacou o relator que já se questiona há muito tempo o potencial de alto consumo de água por plantações de eucalipto e, na atual situação de regimes de seca e escassez de água, é um importante ponto a ser considerado. Enfocou o mesmo sobre o alerta das Nações Unidas em 20 Fev 2015) e que certamente isso se agrava mais ainda a situação. Ressaltou que:

“na fase inicial de crescimento dos eucaliptos (primeiros 4/5 anos), verificada tanto na origem (Austrália) como nas condições do Brasil, em que as plantações consomem mais água, do que em fases posteriores a seguir, promovendo-se com o H421 o aumento do consumo de água exatamente na fase mais crítica de seu consumo, que são os anos iniciais de crescimento da espécie, em que o transgênico H421 prioriza.

Asseverou ainda que a rotação de 7 anos prescreve um período em que a fase inicial de crescimento mais rápido até os 4/5 anos com um período de diminuição do ritmo de crescimento, não provocando um gasto excessivo de água na rotação toda. Com a junção de vários anos de plantio, esse equilíbrio de balanço no consumo de água fica mais claro e evidente.

Como se pode constatar, os argumentos que foram utilizados no processo de proposição do Evento Eucalipto Transgênico H421, baseados em grande parte nos autores ouvidos por nós, parecem não ter sido interpretados corretamente este importante e complexo tema, que é o da produção de água azul. A fama do eucalipto monocultivo em mega escala, chamado pela comunidade organizada e mesmo comum de muitos codinomes impublicáveis, certamente a partir dos argumentos científicos apresentados pelos próprios autores, certamente deverá provocar muitos reclamos e possíveis ações" (transcrito)

30

ii. Fluxo gênico do Eucalipto H421 e potencial de contaminação;

Informa o solicitante de vistas que é preciso considerar que o eucalipto é uma espécie alógama cujo principal polinizador é a abelha europeia afrizanizada e que existem plantações em larga escala de plantas do grupo urograndis, sendo compatíveis de cruzamento com o eucalipto H421. Alega que ainda existem plantações de eucalipto em pequenas áreas de agricultura familiar para produção de mel e energia e que poderiam sofrer cruzamentos com o eucalipto transgênico. Para tanto, apresentou o relator questionamentos sobre as distâncias de deslocamento do pólen, comparativamente ao trabalho publicado feito com radioisótopos e um trabalho recente feito pela Futuragene em parceria com outros laboratórios utilizando o eucalipto geneticamente modificado H421.

Sugere o relator que uma nova equipe discuta as distâncias propostas pelo artigo recente e que o trabalho seja refeito.

Informa o relator que sobre o tema fluxo gênico do eucalipto transgênico, este não seria o melhor para os fins e público algo para silvicultura, já que seu fenótipo destina para a indústria de celulose, sendo esta uma pequena parcela do emprego desta cultura.

Destaca que a prática de uso de monoclonos vem recuando e que para aumentar a diversidade genética em cada talhão plantado, utiliza-se diferentes variedades e desta forma também evita-se a asperção de agroquímicos por avião. O uso do eucalipto geneticamente modificado poderia interferir nesta nova prática de manejo.

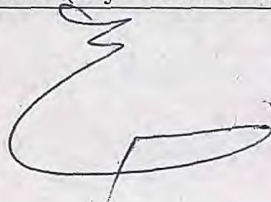
Alega o relator que existe uma propoposta de moratória para o uso de árvores modificadas e que o FSC não outorga certificação em áreas com plantações de eucaliptos transgênicos. Sendo assim, a proposta não está no contexto internacional.

iii. Mel do Eucalipto H421 e alimentação humana;

O Dr. Kageyama argumenta que o Brasil tem cerca de 500 mil produtores de mel, sendo 350 mil pequenos produtores, com uma produção de 40 mil toneladas por ano. Do total exportado, principalmente para os Estados Unidos e Europa, 80% são orgânicos (SEBRAE, 2014, Abemel, 2015). Nada menos que 35 % da produção brasileira de mel vêm da associação de produtores a partir de colméias de plantios de eucalipto, que, para ser aceito como orgânico, não pode apresentar nenhum traço de transgenia. Enfoca o relator que o eucalipto apresenta grande atração para as abelhas, principalmente *Apis mellifera*, é dado como certo que colméias associadas ou próximas a plantações de eucalipto GM produzirão mel com traços transgênicos. O mel brasileiro vem de abelhas que se alimentam em floresta nativas e diversificadas e complementarmente nos plantios de Eucalipto (Abemel, 2015); é justamente esse diferencial do produto brasileiro lá fora que pode ser perdido, lotes de mel a serem exportados serão rigorosamente analisados e, se houver traços transgênicos, o lote será descartado.

Considera o Dr. Kageyama que a empresa defende, sem apresentar proposta concreta, que o Brasil deveria tornar as regras internacionais menos rígidas, estabelecendo limites flxíveis para os traços de genes transgênicos e considera ainda:

“Essa proposta beira à irresponsabilidade, levando em conta a escala dos plantios de eucalipto no Brasil (hoje cerca de 5,1 milhões de Ha) e



a irreversível dependência da produção de mel e outros produtos como Própolis e Pólen in natura. Com o potencial de contaminação e a forma como a maior parte dos proprietários rurais cultivam plantios de eucalipto em suas propriedades, seria impossível evitar o colapso dessa atividade no Brasil, reforçando que atualmente só a companhia Suzano de Papel e Celulose, possui mais de 800 mil hectares de plantio em sete estados, o que ganha uma escala gigantesca imaginando que abelhas voam até 6 km para coleta de néctar em plantações de eucalipto devido a grande oferta de néctar e pólen (Bastos, E. M., 2014 – Apresentação feita Audiência Pública CTNBIO - Setembro 2014)” (transcrito)

32

Considera ainda o solicitante de vistas que:

“Os grãos de pólen vindos de árvores transgênicas também tem em seu DNA o gene inserido artificialmente do eucalipto transgênico. A própria empresa FuturaGene reconhece que o pólen do eucalipto evento H421 é viável, logo, pode fecundar flores de eucaliptos não transgênicos e dar origem a novas árvores de eucalipto. O transporte deste pólen por abelhas ou pelo vento pode chegar a centenas de metros ou até alguns quilômetros, sendo impossível deste modo impedir o cruzamento entre árvores de eucaliptos transgênicos e convencionais, e podendo contaminar até estoques de sementes potenciais, assim como as espécies melhoradas e desenvolvidas para produção de mel, como a variedade de *E. urophylla* melhorada para produzir mais e mais precocemente grande quantidade de mel.

Segundo análise do Ministério do Desenvolvimento Agrário, apresentada durante a Audiência Pública promovida pela CTNBio, os documentos fornecidos pela FuturaGene apresentam falhas que não permitem que se conclua se a planta modificada em questão é ou não segura para as abelhas. É importante ressaltar que a espécie de abelhas *Apis mellifera* é generalista ao forragear, isto é, ela visita flores de diversas espécies quando busca néctar e por isso é um importante agente polinizador de várias plantas, inclusive de culturas usadas para alimentação, como o café, abóbora, feijão, pepino, tomate, e muitas outras. Logo, um risco à saúde destes insetos representa também um risco para a produção agrícola de alimentos.” (transcrito).

Considera ainda que existe uma possibilidade de criação de patógenos resistentes a antibióticos, já que o eucalipto possui uma cópia do gene *nptII* em seu DNA. Pelo fato do gene codificar a enzima neomicina fosfotransferase, que confere resistência a diversos antibióticos e que poderá ser consumida quando presente no mel. Argumenta o Dr. Kageyama

que a presença desta enzima nas colmeias poderá selecionar patógenos resistentes aos antibióticos, que poderão causar doenças de difícil controle nas abelhas. Acrescenta ele que não se conhece os efeitos desta enzima sobre as bactérias presentes no trato intestinal das abelhas e dos humanos que consumirem esse mel.

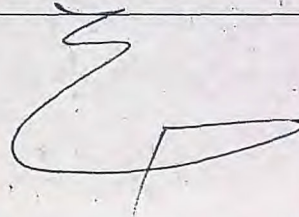
Ainda em sua argumentação, considera o Dr. Kageyama que a empresa admite que muitos ensaios não são conclusivos, pois muitas colmeias foram perdidas em campo e que os dados advindos do mel e impactos na fauna apícola são resultados de experimentos controlados em laboratório. Defende que uma investigação seja feita nos locais das colmeias.

i.v. Eucalipto H421 e a Não Certificação pelo FSC.

O Dr. Kageyama considera que a maioria dos compradores de papel e celulose do mundo requer que o setor industrial apresente selo verde como o concebido pelo Forest Stewardship Council (FSC). Informa que na última assembleia da FSC foi ratificada uma diretriz, nas três câmaras: econômica, social e ambiental, de não aceitar o uso comercial de Árvores Transgênicas, permitindo apenas a pesquisa nesse tema, contido no Critério 6.8 (FSC-STD-BRA-01-2014 V1-0 PT) "O uso de agentes de controle biológico deve ser documentado, minimizado, monitorado e criteriosamente controlado de acordo com as leis nacionais e protocolos científicos internacionalmente aceitos". É proibido o uso de organismos geneticamente modificados, ainda no item 6.8.1, "A Organização deve respeitar as diretrizes do FSC sobre o não uso de OGM na Unidade de Manejo Florestal".

Desta forma, considera o representante do MDA que a liberação comercial do eucalipto não apresenta segurança e que o processo de pesquisa se conclui incompleto e incapaz de prever ou reparar danos à saúde de animais, bem como de contaminação da biodiversidade neste momento.

Frente a estas argumentações, o Dr. Kageyama é contrário à posição de que não existem evidências de que o eucalipto H421 não causa impactos negativos ao meio ambiente e a saúde humana e animal. Desta forma ele solicita o indeferimento do processo.



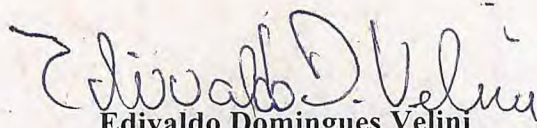
Acrescenta ainda um laudo dos professores Walter Paula Lima e Silvio Ferraz - ESALQ.USP, intitulado "CONSIDERAÇÕES SOBRE O CONSUMO DE ÁGUA POR PLANTAÇÕES FLORESTAIS COM ESPÉCIES DE RÁPIDO CRESCIMENTO, bem como um artigo de Silva, Sebbenn, A. e Grattapaglia, D. Forest Ecology and Management (2014).

XII - Votos Contrários:

Votaram pelo indeferimento da Proposta:

- Paulo Kageyama – Representante do Ministério do Desenvolvimento Agrário
- Geraldo Miniuci Ferreira Júnior – Representante do Ministério das Relações Exteriores
- Suzi Barletto Cavalli – Especialista em Agricultura Familiar

Brasília, DF, 09/04/2015


Edivaldo Domingues Velini
Presidente da CTNBio

Assessor: Gutemberg D. Sousa