



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

Rodovia Admar Gonzaga, 1346 - Itacorubi - CEP 88034-001 - Florianópolis / SC

Telefone +55 (48) 3721-5333 - FAX +55 (48) 3721-5335

rgv@cca.ufsc.br | www.rgv.ufsc.br

Sarah Z. Agapito-Tenfen

Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais

Universidade Federal de Santa Catarina

sarahagapito@cca.ufsc.br

Rubens O. Nodari

Prof Titular do Departamento de Fitotecnia e do PPG em Recursos Genéticos Vegetais

Universidade Federal de Santa Catarina

nodari@cca.ufsc.br

Parecer técnico sobre processo 01200.005161/2010-86 referente ao pedido de liberação comercial do feijão transgênico evento Embrapa 5.1 (BEM-PVØ51-1) da Embrapa Arroz e Feijão e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Esta submissão é referente ao Processo nº 01200.005161/2010-86, feijão transgênico evento Embrapa 5.1 (BEM-PVØ51-1). Primeiramente é necessário declarar que não existe, de nossa parte, nenhum interesse comercial no produto foco do processo acima mencionado, nem ligações diretas ou indiretas com a empresa solicitante, da mesma forma que não possui nenhuma conexão com empresas concorrentes que competem no desenvolvimento de produtos similares.

Esta submissão está organizada de forma a contemplar cada item da caracterização molecular seguindo evidências da elite científica sobre o assunto. Também, utilizaram-se as diretrizes e princípios do Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança e da Lei nº 11.105/2005, bem como a Resolução Normativa Nº 5 da CTNBio que dispõe sobre normas para liberação comercial de organismos geneticamente modificados e seus derivados. A ferramenta para avaliação de risco em biossegurança - *Biosafety Assessment Tool* - foi utilizada como base bibliográfica (<https://bat.genok.org/bat/>).

Esta submissão está dividida em duas partes, a primeira tratando da questão da confidencialidade dos documentos, a segunda discute o conteúdo dos documentos públicos.

As informações discutidas neste documento foram obtidas através do pedido de cópia do processo 01200.005161/2010-86. Tal pedido foi enviado em ofício da CTNBio

258/11 de 20 de abril de 2011 ao Senhor Newton de Mendonça Barbosa Júnior Chefe de Expediente do Departamento de Fitotecnia da UFSC.

Também foram utilizadas informações contidas em três apresentações da Embrapa sobre este feijão transgênico. Uma apresentação disponível no site do Ministério da Agricultura e Abastecimento, outra no site do Center for Environmental Risk Assessment (CERA) e outra no site da CTNBio. Adicionalmente foram utilizados artigos científicos publicados em revistas cientificamente respeitadas.

Os endereços eletrônicos destes documentos são:

http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Feijao/15_reuniao/Apresentacao_Feijao.pdf ;

http://cera-gmc.org/docs/mexico_2011/aragao.pdf ;

e

http://www.ctnbio.gov.br/upd_blob/0001/1536.pdf

Parte 1: Quanto aos documentos confidenciais

A Embrapa requer a confidencialidade de alguns documentos por meio da solicitação contida na página 12 do processo, na qual assinam os chefes gerais de ambos os interessados (Embrapa Arroz e Feijão e Embrapa Cenargen). Em tal solicitação são descritas como informações para as quais se requer confidencialidade aquelas que: “[...] *referem-se ao detalhes da estrutura dos transgenes no evento Embrapa 5.1.*”

Sendo a justificativa para tal requerimento, descrita como:

“ [...] para o resguardo de sigilo das referidas informações se deve ao fato de que 22 eventos de feijoeiro geneticamente modificados foram gerados e apenas dois mostraram resistência ao mosaico dourado, apesar dos demais terem sido transformados com a mesma construção gênica. Ainda não foi determinado o motivo pelo qual essas duas estruturas em particular (como a descrita para o evento Embrapa 5.1 e que é assunto deste documento) conferiram resistência ao geminivírus. [...] poderá ser alvo de proteção intelectual no futuro.”

Neste caso, duas importantes questões são levantadas.

Primeiramente, a confirmação por parte dos proponentes de que não está determinado o mecanismo de funcionalidade do transgene inserido é não apenas preocupante, como muito relevante para os estudos que comprovam a segurança de tal transgênico. O entendimento do funcionamento deste transgene é crucial no desenho dos experimentos e na abordagem investigativa sobre os potenciais riscos a saúde e ao meio-ambiente. **Se os próprios pesquisadores não compreendem, que dirá a comunidade científica e os cidadãos brasileiros**

que sequer tem acesso completo as informações. Indaga-se qual o motivo que leva pesquisadores a legitimar o desconhecido?

Segundo, o termo “*detalhes da estrutura do transgene*” é vago. Portanto, não existe uma descrição de quais informações exatamente são julgadas confidenciais. A RN N° 5 em seu Anexo II prevê as informações que devem ser disponibilizadas:

1. a identificação do evento de transformação genética, objetivo e utilização do OGM e seus derivados;
2. a classificação taxonômica, a partir de família, até o nível mais detalhado do organismo a ser liberado, incluindo, quando apropriado, subespécie, cultivar, patovar, estirpe e sorotipo;
3. o genes introduzidos, organismos de origem e suas funções específicas;
4. o vetor utilizado e seu espectro de hospedeiros;
- 5. o mapa genético utilizado no processo de transformação (transgene/vetor), indicando as regiões que especificam função - promotores, elementos reguladores em cis, genes marcadores de seleção e origem de replicação;**
- 6. o resumo das construções para obtenção do OGM;**
7. a classificação de risco do organismo geneticamente modificado de acordo com a Resolução Normativa n.º 2, de 27 de novembro de 2006;
8. os métodos utilizados para a modificação genética;
- 9. a caracterização molecular do inserto no organismo receptor, fornecendo informações relacionadas a: (1) número de cópias inseridas; (2) localização do inserto no genoma, quando possível; (3) seqüências flanqueadoras do gene; (4) seqüência nucleotídica do transgene inserido no OGM, indicando os elementos reguladores presentes – promotores, elementos reguladores em cis, sítios de poliadenilação, introns e exons e região de terminação da transcrição;**
- 10. o produto da expressão do gene inserido no organismo receptor, descrito em detalhes;**
- 11. as técnicas de detecção gerais e específicas do OGM, apresentando metodologia pertinente;**
- 12. o padrão de herança genética dos genes inseridos;**
13. a descrição dos efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos, quando observados;
14. o grau de estabilidade genotípica, especificando a metodologia utilizada e o número de gerações avaliadas;
15. a existência de interações com efeitos adversos, quando dois ou mais genes forem introduzidos no mesmo OGM, por técnicas de ADN recombinante e suas possíveis conseqüências;
16. as modificações genéticas incluídas no OGM que podem alterar sua capacidade de reprodução, sobrevivência, disseminação ou transferência de genes inseridos para outros organismos;

As informações contidas nos itens 5 e 6 são confidenciais no processo (páginas 63 a 65). Da mesma forma, parte do item 9 e os itens 10, 11 e parte do item 12 também foram consideradas confidenciais (páginas 68 a 77). Mais além, o Anexo II do processo, referente a seqüência completa do lócus de integração do feijão transgênico, também contém informações confidenciais (páginas 235 a 241).

Nos itens 5 e 6 as informações deveriam descrever quais as seqüências e construções genéticas eram de interesse para inserção no feijão. Aqui, não se justifica a confidencialidade, pois estas construções são facilmente patenteáveis e jamais servirão para quaisquer outros grupos de pesquisa com interesse comercial, uma vez que cada transformação gera um diferente evento transgênico, muito provavelmente diferente daquele obtido pela Embrapa. Ou seja, é importante que a comunidade científica saiba o que era alvo de transformação para poder entender aquilo que foi inserido, e sua eficácia.

Os itens 9 a 12 são ainda mais importantes, pois tratam das seqüências que foram inseridas no feijão. Com exceção da seqüência do transgene inserido (indicada no subitem 4 do item 9) que geralmente é considerada confidencial mesmo sob contestação da comunidade científica; **todas as outras informações como número de cópias inseridas, localização do inserto no genoma, seqüências flanqueadoras do gene e a indicação dos elementos reguladores presentes são de extrema importância. Estas informações são fundamentais para produção de marcadores genéticos utilizados na detecção destes transgênicos em alimentos e lavouras, por exemplo.** Também, o número de cópias e a localização do inserto no genoma do feijão são essenciais para investigação sobre a segregação desta característica transgênica, ou seja, na ocorrência de contaminação via pólen transgênico em lavouras convencionais é preciso estimar o número de plantas que será transgênica na geração seguinte de cruzamentos. A descrição dos elementos reguladores serve como parâmetro para estudos de alimentação de camundongos e ratos, uma vez que dependendo dos elementos reguladores presentes, diferentes respostas imunológicas podem ser esperadas.

Sem estas informações não é possível saber o que foi inserido no feijão. Não se sabe quais proteínas transgênicas são expressas nesta planta. Não se sabe como detectar este transgênico em alimentos ou em outras plantas contaminadas.

Parte 2: Quanto às informações disponibilizadas

O vetor utilizado na transformação, pBGMVRNAiAHAS:

<ol style="list-style-type: none"> 1. ahas3' - terminador do gene ahas 2. ahas – região codante expressa proteína acetolacto sintetase, tolerância a herbicida imidazolinonas por um snp que resulta na substituição de uma serina por uma asparagina 3. ahas 5' - promotor de arabidopsis para o gene ahas, mas depois anotado também como uma gene que codifica para proteína SEC61 (Atsec61y), multimerica localizada no reticulo endoplasmático. 	tolerância a herbicida
<ol style="list-style-type: none"> 4. P35S – promotor para os genes rep 5. rep – fragmento de 411bp do gene rep do BGMV (senso) 6. pdk – intron do gene que codifica a piruvato otofosfato diquinase de <i>Flaveria trinervia</i> (Asteraceae) 7. rep – fragmento de 411bp do gene rep do BGMV (anti senso) 8. ocs 3' - terminador do gene da octopina sintase de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (termina a transcrição dos genes rep) 	RNAi
<ol style="list-style-type: none"> 9. bla – gene da beta lactamase de E. coli (resistência a antibiótico) 10. seqüências do vetor intercaladas entre diversos genes 	

Partindo do pressuposto que a empresa proponente está colocando a verdade dos fatos sobre este evento, uma vez que não estão disponibilizados os estudos para tal comprovação; **este feijão transgênico utiliza uma nova tecnologia nunca antes utilizada em larga escala em nenhum outro país.** Essa nova tecnologia, diferente daquelas que já são cultivadas, provoca uma reação direta no vírus patogênico. Isso significa que a planta produz uma molécula que irá interferir na produção de uma outra molécula no vírus patogênico e que impedirá ele de se reproduzir na célula vegetal. Essa molécula produzida pelo feijão transgênico é uma molécula chamada de “**pequeno RNA interferente - siRNA**”, que pode regular a expressão de vários genes em diversos organismos e cujo mecanismo até hoje é pouco explicado.

Evidências científicas discutem possíveis riscos associados exclusivamente a este tipo de tecnologia. Em 2006 foi publicada uma revisão (Banham, 2006) sobre a utilização desta tecnologia em plantas transgênicas na maior e mais conceituada revista científica, *Nature Reviews Genetics*¹. **A autora descreve que os agentes de siRNA são capazes de se mover entre os tecidos das plantas e, portanto, seus efeitos não afetam apenas a célula em que são produzidos. Mais além, existem evidências que estas moléculas podem afetar outras moléculas não-alvo, ou seja, não complementares aos siRNA e então seus efeitos seriam muito difíceis de serem previstos.**

Duas outras tentativas de liberação de uma planta transgênica com a mesma tecnologia falharam. Uma é o tomate Flavr Savr, que foi rapidamente tirado do mercado, pois não produzia tomates grandes o suficiente para entrada no mercado. Já o mamão resistente ao vírus da mancha anelar, só aprovado nos Estados Unidos e produzido em menor escala. A soja DP-305423 também só foi aprovada para cultivo nos Estados Unidos e Canadá, além de ter sido fortemente criticada por diversas entidades como o Centro de Pesquisas Integradas em Biossegurança – Nova Zelândia e ainda sem decisão para importação pela Autoridade Europeia para Segurança Alimentar – EFSA, uma vez que a mesma requer maiores informações da empresa proponente.

Outro evento em tomate demonstrou que esta mesma estratégia pode ser ineficaz. Em plantas transgênicas de tomate expressando o gene *Rep210*, a duração de resistência à TYLCSV aparece ser inversamente proporcional à capacidade do vírus infectante em desligar a expressão do transgene via silenciamento gênico induzida por vírus (VIGS) (Lucioli et al., 2008¹). Esta e outras referências estão no artigo de Lucioli et al. (2008). Segundo os autores, VIGS é uma consequência direta da ação em trans e da natureza não-autônoma da célula do mecanismo fundamental de defesa antiviral nas plantas que

¹ Lucioli, A, et al. A cautionary note on pathogen-derived sequences. *Biotechnol.* v.26, p.617–619, 2008.

é silenciando via RNA. Citando a literatura científica, os autores informam que "*por causa da natureza do processo da ação em trans e das sequências específicas, RNAs celulares homólogos ao indutor do RNA viral são também um alvo da degradação como o RNA viral. Portanto, se uma planta carrega um transgene homólogo a uma sequência viral, então a infecção viral, em seguida, resultará em VIGS do gene (trans)*". No final do artigo os autores concluem que é necessário desenvolver novas estratégias que não o silenciamento por RNA para resistência a vírus.

Ao reagir ao artigo de Lucioli et al., (2008), Aragão e Farias (2009)² concluem que as conclusões de Lucioli et al. (2008) são prematuras. Na resposta publicada pela Revista Nature Biotechnology ao artigo de Aragão e Faria (2009), as autoras Lucioli et al., do mesmo artigo de 2008, afirmaram: "*Se a proteína transgênica não para a expressão viral e / ou replicação nas células infectadas inicialmente, então o vírus desliga a expressão do transgene, levando a um fenótipo suscetível ao vírus*".

Um aspecto relevante é que no título do artigo de Lucioli et al. (2008), no qual foi utilizada a palavra "precaução" com a "tecnologia do RNA interferência". Esta precaução foi embasada pelos resultados descritos e outros exemplos da literatura. Este comportamento é apropriado diante de uma tecnologia, que não só em nível internacional, como no Brasil, o Princípio da Precaução é a melhor recomendação científica. Para surpresa quase geral, os pesquisadores Aragão e Farias da Embrapa, autores do evento Embrapa 5.1, consideraram a recomendação de Lucioli e colegas como "prematura", mesmo diante de muitos dados científicos. **O que é mais prematuro, os dados da literatura ou a pressa em liberar uma planta transgênica cuja parte molecular é desconhecida da sociedade brasileira?**

Esta mesma estratégia de silenciamento gênico está sendo adotada pela Embrapa.

Perguntas pertinentes: a) qual será a durabilidade da tecnologia? b) o que acontecerá com o transgene se for transferido para outras variedades, que são cultivadas no sul do Brasil, onde o problema não existe? c) o que acontecerá com o transgene se for transferido para outras espécies?

Além destas questões preliminares relacionadas a análise molecular é relevante ainda mencionar o que segue.

² Aragão, FJL & Farias J. First transgenic geminivirus resistant plant in the field. Nature Biotechnology, v. 27, n. 12, p:1086-1088, 2009.

1. A caracterização molecular do inserto no organismo receptor, fornecendo informações relacionadas a: (1) número de cópias inseridas; (2) localização do inserto no genoma, quando possível; (3) seqüências flanqueadoras do gene;

O padrão de herança genética dos genes inseridos

[DOCUMENTOS CONFIDENCIAIS - (4) seqüência nucleotídica do transgene inserido no OGM, indicando os elementos reguladores presentes – promotores, elementos reguladores em cis, sítios de poliadenilação, introns e exons e região de terminação da transcrição. O produto da expressão do gene inserido no organismo receptor, descrito em detalhes. As técnicas de detecção gerais e específicas do OGM, apresentando metodologia pertinente.]

Segundo a empresa proponente, quatro análises foram realizadas a fim de se confirmar a integração do inserto, foram estas: segregação das características fenotípicas ao longo de gerações de auto-fecundação e retrocruzamento, Southern Blot, PCR e FISH.

Anterior a discussão sobre os resultados obtidos, é necessário destacar que a cultivar utilizada tanto para transformação (Olathe) e as demais cultivares comerciais de feijão são plantas autógamas, com alta taxa natural de autofertilização (acima de 95%). Ou seja, tratam-se de linhas puras, constituídas por plantas homozigotas. Plantas em homozigose, ou seja, com todos os genes com pares de alelos iguais em todos os cromossomos de seu genoma, não segregarão na formação de gametas e produzirão descendentes com o mesmo genótipo se forem multiplicada por autofecundação ou se cruzarem com plantas da mesma linhagem. Neste caso, as plantas descendentes serão idênticas geneticamente à planta original, podendo apresentar diferenças fenotípicas entre as plantas em função de efeitos ambientais que interfiram em seu metabolismo ou expressão gênica.

Todas as plantas da geração F1 (24 plantas analisadas) do cruzamento das plantas transgênicas com plantas não-transgênicas da variedade BRS Pontal (pai recorrente) apresentaram o gene *atahas*. Ou seja, tratam-se de plantas idênticas geneticamente, no entanto hemizigotas, inclusive para o inserto.

Todavia, verificou-se que 20-30% das plantas F1 que eram positivas para o transgene apresentavam sintomas de infecção com o BGMV (folha 78).

Neste caso, levantam-se duas hipótese:

- a. Não existe estabilidade e integridade do inserto. São geradas plantas com diferentes insertos e, portanto, diferentes expressões da reação de resistência ao vírus. Existe uma dificuldade maior em se testar esta hipótese uma vez que o transgene detectado foi o de resistência**

ao herbicida e não o transgene de expressão do RNAi (alvo da transgenia).

- b. Existe estabilidade e integridade do inserto, todavia ele sofre grande influência ambiental. Também existe uma grande dificuldade em se testar esta hipótese. Primeiramente, o desenho experimental e a análise estatística são fracos, se não totalmente inválidos, com amostragem pequena. Segundo, outro experimento deveria ser realizado para testar objetivamente a influência do ambiente na expressão dos transgenes, isto não foi feito. Quando se discute influência ambiental, deve se considerar o background genético como ambiente receptor no qual o inserto irá se expressar, e não apenas o meio ambiente. Novamente, apenas a cultivar BRS Pontal e Pérola foram utilizadas nas sucessivas gerações.**
- c. O inserto está presente e íntegro, todavia ocorreu o silenciamento do transgene pelos mecanismos já explicitados acima, com base no artigo de Lucioli et al., (2008).**
- d. Excepcionalmente, se as plantas transgênicas não foram cultivadas isoladamente, poderia ter havido fluxo gênico, pois a taxa de fecundação cruzada pode ser superior a 4% (segundo a literatura científica). Neste caso as implicações em termos de biossegurança seria ainda maiores.**

Outras gerações foram analisadas pela empresa proponente. Nas gerações F1RC1 oriundas do cruzamento da geração F1 com o parental recorrente Pontal (79 plantas analisadas) e F1RC1 oriundas do cruzamento da geração F1 com o parental recorrente Pérola (80 plantas analisadas). Estas gerações seguem o padrão Mendeliano de segregação 1:1 com $P=0,51$ e $P=0,54$, respectivamente. No entanto, não são apresentados os resultados referente aos fenótipos resistentes e susceptíveis ao vírus nestas gerações.

Outros resultados para gerações F2RC4 são apresentados tanto para a segregação do transgene *atahas* e o fenótipo, sem em nenhum momento diferirem estatisticamente das frequências esperadas.

Em dois momentos (linha 21 folha 78 e linha 12 folha 79) a proponente afirma existirem plantas que não seguem o padrão de fenótipo esperado, inclusive afetando a relação resistente:susceptível avaliada, no entanto, sem comprometer os resultados.

Tais afirmação são de extrema importância e jamais deveriam ser desprezadas. Novamente, estes escapes podem confirmar uma das hipóteses levantadas anteriormente e devem ser profundamente estudadas para garantir a estabilidade

e integridade do inserto. A evidência constatada pela empresa proponente indica que a instabilidade genotípica ou fenotípica ou mesmo o silenciamento do transgene podem estar acontecendo. Daí a necessidade de estudos adicionais.

Em suma, estes cruzamentos sem um seqüenciamento completo do inserto, além da rastreabilidade do local do inserto de nada garantem a sua inserção em apenas um locus, e muito menos sua estabilidade e integridade.

É inadmissível que o transgene *rep* não tenha sido detectado nestas plantas nas diferentes gerações.

No entanto, ainda mais preocupante são os resultados apresentados na Tabela V.17 (folha 79). Nela são apresentados dados referentes a resistência ou susceptibilidade de plantas F1, positivas para o transgene, e oriundas de cruzamentos entre o transgênico em questão (Olathe 5.1) e seis outros cultivares. Nota-se que nenhuma análise estatística é apresentada! Estes resultados mostram fenótipos susceptíveis em plantas que deveriam ser resistentes, uma vez que possuem o transgene. Tendo a susceptibilidade variação de 10 a 36,5%, dependendo o genótipo do cruzamento.

A empresa proponente interpreta os resultados da tabela como sendo um padrão coerente com o conceito de “efeito de dosagem gênica” ou expressividade, na qual, existe ação diferencial dos alelos de um gene sobre a expressão fenotípica do caráter (linha 5 folha 79).

Este conceito de “dosagem gênica” está totalmente equivocado para este caso simplesmente pelo fato de estarmos falando de um único “alelo” sem variações, o transgene. A dosagem gênica só seria possível se houvessem mutações no transgene (inclusive alterações estruturais e numéricas) ou se ele sofresse diferentes interações alélicas quando mais de um alelo está expressando a característica.

Ou seja, voltamos às duas hipóteses levantadas nos casos observados anteriormente:

- a. Ou não existe estabilidade e integridade do inserto e são geradas plantas com diferentes insertos e, portanto, diferentes expressões da reação de resistência ao vírus.**
- b. Ou existe estabilidade e integridade do inserto, todavia ele sofre grande influência ambiental, aqui incluindo os efeitos da interação gênica epistática, dependendo do background genético.**
- c. Alternativamente o transgene pode estar sendo transientemente silenciado (ver Lucioli et al., 2008).**

A Tabela mostra que dependendo do background genético (Jalo Precoce, Olathe Pinto, Dark Red Kidney 18, BRS Supremo, BRS Pontal, Pérola) a porcentagem de plantas transgênicas suscetíveis é bastante variável, variando de 10 a 36,2%.

Análises de Southern Blot foram realizadas para comprovação da estabilidade do inserto. Estas análises foram feitas até a oitava geração de autopolinizações, cruzamentos e retrocruzamentos com apenas a variedade BRS Pontal.

Como a estabilidade do inserto pode ser alterada dependendo do background genético, e com certeza se disponibilizada no mercado irá ser introgridida em diversas outras cultivares, a proponente deveria ter realizado outros cruzamentos. Principalmente se considerarmos que os testes de resistência de plantas F1 do cruzamento com outras variedades mostraram-se divergentes.

Nos resultados apresentados, pode-se perceber a inadequada abordagem utilizada pela empresa proponente em estudar a estabilidade do inserto. Apenas uma sonda (P35S) e uma enzima de restrição foram utilizadas (*XbaI*). Tal abordagem apenas verifica a região do inserto que contém o promotor P35S, o que não corresponde a sequer 10% da seqüência total inserida. Como existe a possibilidade de recombinação gênica dentro da região do inserto é necessário que todo o inserto seja seqüenciado ao longo das gerações para que inclusive mutações pontuais possam ser verificadas. Tal possibilidade foi confirmada no estudo de Rosati et al. (2008)³.

Apesar da apresentação de resultados de PCR demonstrarem a amplificação esperada de fragmentos alvo de nove pares de iniciadores, a técnica de Southern Blot é complementar neste tipo de investigação porque podem ser capazes de analisar um perfil do genoma inteiro quando sondas adequadas são utilizadas.

Quanto a análise de outros géis de Southern Blot contidos na apresentação da Embrapa na audiência pública e no MAPA, amostras de DNA do feijão transgênico digeridas com as enzimas N e K e hibridizados com a sonda P35S e ahas5' não estão adequados. Não é possível identificar o número de bandas presentes no gel e conseqüentemente verificar o número de cópias destes promotores.

Três questões são importantes.

- a. Qual o número de plantas analisadas e de qual geração?
- b. Por que o controle (feijão não transgênico) não foi digerido com todas as enzimas de digestão utilizadas no feijão transgênico? Faltaram as digestões com *KpnI* (K), *NcoI* (N) e *SphI* (S).

³ ROSATI, A., et al. Characterisation of 3' transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 *YieldGard* maize. *Plant Mol. Biol.*, v. 67, p. 271-81, 2008.

- c. **A amostra de feijão transgênico digerida com a enzima X e hibridizada com a sonda ahas5' não apresenta padrão de bandas condizente com o número de cópias descritas como inseridas. Quatro ou cinco bandas seriam esperadas (o esquema do inserto da apresentação é um pouco confuso) mas definitivamente duas bandas encontradas não seria o esperado. Como a proponente explica isto?**

Segundo a empresa proponente, foram inseridos não apenas o gene que confere a resistência ao vírus patogênico, mas também outros dois transgenes que conferem resistência a um herbicida e a um antibiótico. **No entanto, os estudos que descrevem tal inserção estão também confidenciais. Que tipo de análise pode a comunidade científica fazer sem acesso a este tipo de informação? Mesmo assim, abaixo estão as considerações possíveis.**

O transgene de resistência ao herbicida, apesar de expresso em níveis considerados baixos, ele apresenta apenas 75% de similaridade com a seqüência nativa deste gene, e sua proteína expressa apresenta apenas 83% de similaridade de aminoácidos presentes (Folha 60). Sabe-se que a seqüência de aminoácidos não deve ser o único parâmetro a ser analisado quando da verificação da nova proteína transgênica expressa. Isso porque estas novas moléculas são as que mais provavelmente poderão desencadear processos alergênicos em humanos e animais. Na folha 106 a proponente apresenta dois estudos que visam responder o item 7 do Anexo III da RN nº 5 que dispõe sobre avaliação de risco à saúde humana e animal. Estes dois estudos foram conduzidos de maneira a alimentar ratos com feijão transgênico e convencional. No entanto, o primeiro não visa estudar os possíveis efeitos adversos e sim, como descrito: “[...] o objetivo era de comparar o desempenho dos animais [...]”. E não havendo diferenças estatisticamente significativas com relação ao peso corpóreo, ganho de peso e consumo de ração; os pesquisadores concluem: “Portanto, considerando os resultados, não houve base científica para conduzir análises imunológicas.”

Não existe nenhuma base científica que comprove que animais com mesmo peso, ganho de peso e consumo de ração descartam a possibilidade de reações imunes a qualquer novo alimento introduzido na dieta.

Mais além, no segundo estudo foram realizadas análises morfológicas com mensuração do peso, tamanho dos órgãos dos animais na autópsia, análises histológicas da mucosa gástrica e intestinos. **Nenhuma análise estatística foi realizada neste estudo para conclusão de que não existem diferenças nos parâmetros analisados entre aqueles ratos que se alimentaram com o feijão transgênico e o convencional.**

Ou seja, o item 7 não foi adequadamente investigado e as conclusões apresentadas são infundadas. Inúmeros outros exemplos são encontrados nas informações contidas nos itens 8, 9 e 10 relativos à segurança alimentar.

2. O vetor utilizado e seu espectro de hospedeiros.

Sobre a afirmação abaixo contida na Folha 61 não há nenhuma prova científica:

"Não existe qualquer evidência de que a *A. thaliana* seja patogênica a humanos ou que produza toxinas e alérgenos. Por não ser tipicamente consumida na alimentação humana ou animal, a *A. thaliana* não possui histórico de consumo."

Igualmente, a informação abaixo (Folha 61) é incompleta, pois não fornece de quanto é a similaridade e tampouco informa as diferenças:

"...o gene *AtAhas* é encontrado em todas as espécies vegetais em que esse gene foi buscado e têm alta similaridade, inclusive com o gene *PvAhas* (que codifica para AHAS do feijoeiro)."

Sobre a afirmação cabe mencionar que em plantas não geneticamente modificadas infectadas por geminivírus há a ocorrência natural das mesmas seqüências de siRNA em folhas e outros tecidos (Chellappan et al., 2004; Carrillo-Tripp et al., 2007; Ribeiro et al., 2007), cabe questionar:

- a) O artigo de Chellappan et al. (2004) analisou os siRNAs em mandioca e tabaco. No presente processo não é mencionado se o alvo destes siRNAs são os mesmos do transgene inserido no feijão ou não. Desta forma, inferir sobre a segurança do evento Embrapa 5.1 com base neste trabalho não é cientificamente sólido.
- b) No artigo de Carrillo-Tripp et al. (2007), a análise dos siRNAs foi feita em uma espécie de *Piper* e os autores não encontraram correlação entre a concentração de siRNAs e a severidade dos sintomas. Isto funciona igual no feijão transgênico em tela? Ou não?

Em relação as afirmações:

"O CaMV tem um baixo espectro de hospedeiros, sendo restrito às plantas da família Cruciferae (couve, couve-flor, brócolis, repolho, mostarda). *Phaseolus vulgaris* não é hospedeiro do CaMV (ICTV, 2006). ... As seqüências do CaMV e *A. tumefaciens* isoladas, como presentes no evento de feijão Embrapa 5.1 não causam danos à planta sob qualquer aspecto estudado, além de não serem codificadoras de proteínas".

Cabe questionar:

- a) no presente processo, não há menção de vários artigos científicos sobre os possíveis efeitos do promotor 35S, alguns publicados há mais de 20 anos, como explicitado abaixo.
- b) Vários artigos demonstram que o promotor 35S, extraído do CaMV é sitio de transcrição mesmo em organismos não hospedeiros, não só em procariotos como também em eucariotos. Aqui alguns exemplos da literatura: nas bactérias *Escherichia coli*⁴, *Yersinia enterocolitica*⁵ e *Agrobacterium rhizogenes*, em fungos⁶, em extratos de linhagens de células humanas cancerosas⁷, em culturas

⁴ Assaad FF and Signer ER (1990). Cauliflower mosaic-virus p35S promoter activity in *Escherichia coli*. *Molecular and General Genetics* 223(3): 517-520.

⁵ Lewin A, Jacob D, Freytag B, Appel B (1998). Gene expression in bacteria directed by plant-specific regulatory sequences. *Transgenic Research* 7:403-411.

⁶ Pobjecky N, Rosenberg GH, Dintergottlieb G, Kaufer NF (1990). Expression of the betaglucuronidase gene under the control of the CaMV-35S promoter in *Schizosaccharomyces pombe*. *Molecular & General Genetics* 220 (2): 314-316

de células de fibroblasto (tecido conjuntivo) humano⁸ ou em células de hamsters⁹.

Apesar disso, até o momento nenhum estudo foi aportado ou publicado pelo proponente sobre o inserto do evento em tela, relatando os resultados de pesquisas sobre o efeito do promotor 35 S do CaMV in vivo, a partir do feijão transgênico.

3. Resumo das construções para obtenção do OGM

O objetivo da construção Δ AC1hpRNA foi gerar o silenciamento específico do gene rep (AC1) do BGMV. No entanto, outros genes foram inseridos, como o gene *AtAhas* de *A. thaliana* que confere o fenótipo de tolerância do feijão transgênico aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas.

Ainda, outras seqüências também estão presentes do feijão transgênico. Uma delas refere-se ao gene de *A. thaliana* que codifica a subunidade gama da proteína SEC61 (*Atsec61γ*). Segundo o processo, SEC61 é uma proteína multimérica de transporte localizada no retículo endoplasmático. Outra seqüência presente no feijão transgênico é do promotor 35SCaMV, tendo uma a montante uma seqüência específica do feijoeiro Embrapa 5.1 denominada pelos proponentes de 35SPv1. Embora os proponentes inferiram "*que não foi possível identificar qualquer transcrito para essa ORF*", a expressão de um transcrito não pode ser descartada.

As seqüências do BGMV presentes no evento Embrapa 5.1 possivelmente não codificam para uma nova proteína e o hpRNA resultante da expressão do gene quimérico que contém essas seqüência é processado pela célula em siRNA.

4. Descrição dos efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos, quando observados.

A empresa proponente afirma na linha 3 da Folha 80: "*Não foram observados efeitos pleiotrópicos e epistáticos provocados pela inserção dos genes atahas e Δ AC1hpRNA.*"

No entanto, as cinco folhas que sucedem, que deveriam comprovar a afirmação acima, tratam apenas de uma caracterização agrônômica.

⁷ Burke C, Yu X-B, Marchitelli L, Davis EA and Ackerman S (1990). Transcription Factor IIA of wheat and human function similarly with plant and animal viral promoters. Nucleic Acid Research 18(12):3611-3620. Guilley H, Dudley RK, Jonard G, Balazs E and Richards KE (1982). Transcription of Cauliflower Mosaic Virus DNA: Detection of promoter sequences, and characterization of transcripts. Cell 30:763-773.

⁸ Vlasak, J., Smahel, M., Pavlik, A., Pavingerova, D., and Briza, J. (2003). Comparison of hCMV immediate early and CaMV 35S promoters in both plant and human cells. J. Biotechnol. 103, 197-202.

⁹ Tepfer, M., Gaubert, S., Leroux-Coyau, M., Prince, S., Houdebine, LM. Transient expression in mammalian cells of transgenes transcribed from the Cauliflower mosaic virus 35S promoter. Environ. Biosafety Res. 3, 91-97, 2004.

Não obstante, nas primeiras linhas da folha 83, a empresa proponente afirma:

“Embora se tenha observado algumas diferenças significativas para algumas características entre o evento Embrapa 5.1 e seu parental Olathe no ano de 2008 (comprimento máximo das folhas primárias, número de sementes por vagem, comprimento das vagens e comprimento das sementes) e 2009 (peso de 100 sementes, comprimento de sementes e número de grãos por vagem), tais diferenças não foram consistentes todo o tempo em todos os locais.”

Aqui, três questões a serem discutidas.

A empresa proponente afirma em declaração contida na Folha 14 que:

“[...] tanto quanto lhe é dado saber, certificam que as informações fornecidas na presente proposta de liberação comercial do evento de feijoeiro Embrapa 5.1 geneticamente modificado, resistente ao mosaico dourado, são no limite do nosso conhecimento, completas, acuradas e verdadeiras.”

Fica claro que a empresa proponente não se porta adequadamente, pois até os estudantes de iniciação científica não ousariam fazer as mesmas conclusões. É evidente que não há necessidade de consistência entre anos, porque as condições climáticas são diferentes. O mais importante é a comparação entre GM e não GM no mesmo local e ano, em condições experimentais sólidas. Neste caso, a diferença estatisticamente significativa deve ser explicada e não desmerecida. Em qualquer livro de genética de populações apreende-se que na biologia, as interações são a regra e não a exceção.

Ainda assim, as avaliações de características agronômicas não são suficientes para garantir a inexistência de efeitos pleiotrópicos e epistáticos, e estes efeitos podem não ser visualmente detectáveis no fenótipo. Mais além, os efeitos podem se expressar em outras características de relevância biológica contudo pouco importante agronomicamente. Ou ainda diante de condições climáticas específicas.

Mais além, efeitos pleiotrópicos e epistáticos são considerados não-alvo e indesejados, já que podem interagir negativamente tanto na expressão do transgene quanto na expressão de gene importantes para a planta. Desta forma, análises que focam suas investigações no alvo, neste caso o transgene, não são suficientes para detectar possíveis efeitos fora do alvo. Recentemente publicada, a revisão de Heinemann et al. (2011)¹⁰ é uma ótima referência de como e quando

¹⁰ Heinemann, J; Kurenbach, B; Quist, D. Molecular profiling — a tool for addressing emerging gaps in the comparative risk assessment of GMOs. Environment International, 37, 1285–1293, 2011.

realizar estudos que investigam o perfil molecular comparativo entre organismos transgênicos e seus relativos convencionais.

As variações na expressão de algumas características, mesmo sem recorrência são sim, na verdade, uma indicação de efeitos pleiotrópicos e/ou epistáticos. Tais efeitos podem sofrer grande influência do background genético e/ou ambiental e deveriam ser estudados mais profundamente. Mais além, a proponente se engana pois existe recorrência nos dois anos para as características de número de sementes por vagem e comprimento de sementes.

Em suma, os estudos apresentados aqui não caracterizam por completo os possíveis efeitos pleiotrópicos nem os epistáticos. No entanto, trazem um indicativo de que tais fenômenos podem estar tendo efeitos em características como comprimento máximo das folhas primárias, número de sementes por vagem, comprimento das vagens, comprimento das sementes e peso de 100 sementes.

5. Existência de interações com efeitos adversos quando dois ou mais genes forem introduzidos no mesmo OGM, por técnicas de DNA recombinante e suas possíveis consequências.

Aparentemente, a partir do esquema do inserto presente em uma das apresentações da Embrapa, neste evento foram inseridos cinco cópias do cassete de expressão do gene *atahas* que expressa resistência a uma classe de herbicidas. Três dessas cópias são íntegras, duas são truncadas. Além de sequências do promotor *atahas* 3´ está presente em diversos locais na região do inserto.

Também foram inseridas três cópias do cassete de expressão do gene *rep*. Uma está íntegra e duas outras truncadas com elementos regulatórios ausentes.

Mais além, este evento possui elementos reguladores, sequências do vetor e do genoma cloroplástico da planta em vários locais dentro da sequência do inserto, ou seja, apresenta truncamento complexo com duplicação de diversas regiões.

Portanto, a empresa proponente erra ao afirmar que apenas dois genes foram inseridos (parágrafo 3 folha 85), principalmente pelo fato de existirem versões truncadas e incompletas destes cassetes de expressão que envolvem promotores, terminadores, íntrons e sequências antisense.

Neste item, a empresa proponente apenas afirma que ambas as rotas metabólicas são independentes sem qualquer evidência científica. **Lembra-se que esses dois cassetes de expressão nunca funcionaram juntos num mesmo organismo.**

Ainda, a empresa proponente deveria estudar profundamente a possibilidade de expressão de outros produtos além daqueles esperados devido a presença de seqüências truncadas de ambos os genes.

Novamente a empresa proponente insiste em justificar sua afirmação de independência de rotas metabólicas através da estudos de caracterização agrônômica e composição nutricional. Tal abordagem é completamente equivocada e já foi discutida anteriormente.

6. Possíveis efeitos na cadeia alimentar humana e animal pela ingestão de OGM e seus derivados e diferenças na composição química e nutricional entre o OGM e seu organismo parental

A empresa proponente novamente insiste em confirmar apenas a presença dos cassetes íntegros, sem citar a presença de cassetes truncados e o grande número de cópias presentes.

Foi realizada uma análise da composição de grãos. No primeiro parágrafo a empresa proponente afirma ter utilizado outras quatro variedades cultivadas em oito localidades no Brasil e em múltiplos anos como padrão de referência para estabelecer uma faixa de variação natural para cada substância analisada.

Essa abordagem está totalmente equivocada! Para se saber se o OGM a ser introduzido tem alterações na sua composição química e nutricional o único comparador e padrão deverá ser a versão isogênica não-transgênica, ou seja, o parental que foi modificado antes da modificação genética! O item 3 do Anexo III da RN no. 5 diz:

“3. as diferenças de composição química e nutricional entre o alimento oriundo do vegetal geneticamente modificado e do vegetal não modificado, in natura ou após processamento e a existência de equivalência substancial **entre o OGM e seu organismo parental**”

É bastante provável que a composição deste feijão transgênico esteja dentro da variabilidade existente nas variedades analisadas, principalmente pelo fato de cada cultivar se tratar de uma linhagem pura, e assim bastante diferente das outras cultivares.

Em outro estudo, ao comparar o evento Embrapa 5.1 e o parental que gerou o evento (Olathe), a empresa proponente mostrou **resultados significativos estatisticamente para três substância avaliadas: teor de cisteína, extrato etéreo e teor de vitamina B2**. No entanto, a empresa proponente utiliza o mesmo argumento anterior para justificar tais resultados. O argumento baseia-se no fato de não haver recorrência nos anos e locais estudados para tal diferença

estatística. Novamente, a produção de tais substâncias pela planta pode sim ser afetada por condições ambientais e, portanto, não se comportará igualmente em diferentes locais e anos. Todavia, isso não garante que a planta transgênica não apresente diferencial de expressão em relação a sua versão não-transgênica. Tal resultado deveria ser mais profundamente estudado, fazendo ensaios em laboratórios comparando as plantas transgênicas com o parental que deu origem a este evento.

No primeiro parágrafo da folha 94, a empresa proponente também apresenta outra justificativa para os resultados obtidos. Desta vez ela atribui as diferenças observadas como sendo de origem natural, pois o evento em questão é oriundo de apenas uma planta. Tal justificativa é bastante remota pois, mais um vez, a cultivar Olathe, parental deste evento, é uma linhagem pura e todas as plantas desta população apresentam alto grau de homozigose e semelhança genética entre si. É muito pouco provável que uma planta seja muito diferente da outra da mesma cultivar.

O mais intrigante é saber que o número de plantas amostradas varia de 4 a 162 para estas análises.

7. Variação das proteínas em grãos cultivados em três regiões do Brasil

Foram realizadas análises do perfil protéico em grãos colhidos de campos cultivados com o evento Embrapa 5.1 e Olathe convencional. A empresa proponente afirma que foram identificadas as principais proteínas presentes em grãos maduros de feijão e que não foram observadas diferenças entre o evento e as plantas convencionais (folha 100).

Primeiramente, não está descrito o número de grãos e de plantas analisadas.

Mas o mais intrigante é que nenhuma análise estatística foi feita nas proteínas (spots) encontrados nos géis para poder afirmar que não existem diferenças entre as plantas acessadas!

A análise proteômica comparativa e diferencial é a utilização da técnica da eletroforese bidimensional para separação de proteínas em extratos biológicos. Para tanto, uma correta amostragem e desenho experimental dos procedimentos em laboratório (ex: número de géis e suas repetições técnicas) deve ser utilizada, caso contrário, estes resultados não são válidos!

Mais além, a expressão diferencial das proteínas observadas nos géis não é feita visualmente, mas sim pela utilização de um software de proteômica capaz de medir o volume, e/ou outros critérios selecionados pelo usuário, e assim comparar dentro as amostras dos tratamentos. Isso não foi feito!

Essa análise proteômica deveria ser totalmente descartada pois não segue os mínimos padrões de desenho experimental e análise estatística.

Ainda, todas as proteínas presente nos géis deveriam ser analisadas e comparadas e não apenas as principais. Apenas 26 proteínas foram identificadas e este número é extremamente baixo se comparado a resolução da técnica e outras referências bibliográficas já disponíveis na literatura, que também não foram incluídas (ex: Zolla et al., 2008¹¹). Igualmente o artigo em anexo de La Gente et al. (2011) mostra a identificação de mais de 600 spots em um gel de amostras de grãos de feijão. Mais além, ele poderia ser uma referência para uma metodologia apropriada.

8. Questões gerais

Quais são as três seqüências do genoma da planta que intercalam o inserto? Quais foram as análises realizadas para comprovar que não existe potencial de transcrição e tradução?

Quais análises foram realizadas para confirmar que as seqüências parciais de gene *bla* não estão sendo transcritas ou traduzidas? Análises de Southern Blot indicando a não-integridade da seqüência inserida não confirma a sua não-expressão! Seqüências truncadas e parciais também têm potencial de expressão.

O que são as seqüências do vetor presentes no inserto? Quais foram as análises realizadas para comprovar que não existe potencial de transcrição e tradução?

O que são as seqüências flaqueadoras do inserto? Quais foram as análises realizadas para comprovar que não existe potencial de transcrição e tradução?

A empresa proponente afirma que a seqüência truncada 35SPv1 com potencial de transcrição e tradução é o promotor *P35S* com uma seqüência do feijoeiro (Folha 67).

“Com exceção da seqüência truncada 35SPv1 (discutida a seguir), não foram encontradas seqüências com potencial de transcrição e tradução nos sítios de integração além dos próprios transgenes introduzidos.”

A partir da Folha 67 até a Folha 77 as informações foram consideradas confidenciais. Esse tipo de informação é extremamente importante para as avaliações de segurança alimentar e ambiental e de nada se justifica pela propriedade intelectual. Novamente, a proponente pede confidencialidade, a CTNBio aceita e a comunidade científica não tem acesso a informação relevantes do ponto de vista da biossegurança. Os autores do presente

¹¹ Zolla, L., Rinalducci, S., Antonioli, P., & Righetti, P. G. (2008). Proteomics as a complementary tool for identifying unintended side effects occurring in transgenic maize seeds as a result of genetic modifications. *Journal of Proteome Research*, 7(5), 1850-1861

documento não tiveram acesso às informações consideradas confidenciais e, portanto, a presente análise não pode considerar outros aspectos que uma empresa pública jamais poderia esconder de seus contribuintes.

9. Principais pontos

Quanto ao sigilo das informações:

Sem estas informações não é possível saber o que foi inserido no feijão. Não se sabe quais proteínas transgênicas são expressas nesta planta. Não se sabe como detectar este transgênico em alimentos ou em outras plantas contaminadas.

Quanto a justificativa de sigilo das informações:

A empresa proponente afirma ainda não ter determinado o motivo pelo qual esse evento transgênico é resistente ao geminivírus. Se os próprios pesquisadores não compreendem, que dirá a comunidade científica e os cidadãos brasileiros que sequer têm acesso completo as informações. Indaga-se qual o motivo que leva pesquisadores a legitimar o desconhecido?

Quanto a nova tecnologia aplicada neste transgênico:

Este feijão transgênico utiliza uma nova tecnologia nunca antes utilizada em larga escala em nenhum outro país.

Quanto a eficácia desta tecnologia e as implicações para a biossegurança:

Verificou-se que 20-30% das plantas F1 que eram positivas para o transgene apresentavam sintomas de infecção com o BGMV (folha 78). Neste caso, levantam-se duas hipóteses: (a) Não existe estabilidade e integridade do inserto. São geradas plantas com diferentes insertos. (b) Existe estabilidade e integridade do inserto, todavia ele sofre grande influência ambiental e/ou do background genético. (c) O inserto está presente e íntegro, todavia ocorreu o silenciamento do transgene pelos mecanismos já explicitados acima, com base no artigo de Lucioli et al., (2008). (d) Excepcionalmente, se as plantas transgênicas não foram cultivadas isoladamente, poderia ter havido fluxo gênico, pois a taxa de fecundação cruzada pode ser superior a 4% (segundo a literatura científica). Neste caso as implicações em termos de biossegurança seria ainda maiores.

Quanto à avaliação de risco a saúde humana e animal e risco ambiental:

A proponente não realizou análises imunológicas e justifica tal atitude devido aos resultados de desempenho alimentar dos animais estudados. Não existe nenhuma base científica que comprove que animais com mesmo peso, ganho de peso e consumo de

ração descartam a possibilidade de reações imunes a qualquer novo alimento introduzido na dieta.

Nenhuma análise estatística foi realizada no estudo acima referido para conclusão de que não existem diferenças nos parâmetros analisados entre aqueles ratos que se alimentaram com o feijão transgênico e o convencional.

As avaliações de características agronômicas não são suficientes para garantir a inexistência de efeitos pleiotrópicos e epistáticos, principalmente pelo fato de que estes efeitos podem não ser visualmente detectáveis no fenótipo. Mais além, os efeitos podem se expressar em outras características de relevância biológica contudo pouco importante agronomicamente. Ou ainda diante de condições climáticas específicas.

As variações na expressão de algumas características, mesmo sem recorrência são sim, na verdade, uma indicação de efeitos pleiotrópicos e/ou epistáticos. Tais efeitos podem sofrer grande influência do background genético e/ou ambiental e deveriam ser estudados mais profundamente. Mais além, a proponente se engana pois existe recorrência nos dois anos para as características de número de sementes por vagem e comprimento de sementes.

A empresa proponente erra ao afirmar que apenas dois genes foram inseridos (parágrafo 3 folha 85), principalmente pelo fato de existirem versões truncadas e incompletas destes cassetes de expressão que envolvem promotores, terminadores, íntrons e seqüências antisense.

A empresa utiliza uma abordagem totalmente equivocada na investigação de alterações na composição química e nutricional. Para se saber se o OGM a ser introduzido tem alterações na sua composição química e nutricional o único comparador e padrão deverá ser a versão isogênica não-transgênica, ou seja, o parental que foi modificado antes da modificação genética. Tal informação está explicitamente contida no item 3 do Anexo III da RN no. 5.

Em outro estudo, ao comparar o evento Embrapa 5.1 e o parental que gerou o evento (Olathe), a empresa proponente mostrou resultados significativos estatisticamente para três substâncias avaliadas: teor de cisteína, extrato etéreo e teor de vitamina B2. No entanto, a empresa proponente utiliza o mesmo argumento anterior para justificar tais resultados. O argumento baseia-se no fato de não haver recorrência nos anos e locais estudados para tal diferença estatística. O número de plantas amostradas neste estudo varia de 4 a 162 para estas análises. Quatro plantas é evidentemente insuficiente para realização de uma análise estatística adequada.

Nenhuma análise estatística foi feita no estudo que investiga as proteínas (spots) encontradas nos géis para poder afirmar que não existem diferenças entre as plantas acessadas (Folha 100). Mais além, a expressão diferencial das proteínas observadas nos géis não é feita visualmente como fez a empresa proponente, mas sim pela utilização de

um software de proteômica capaz de medir o volume, e/ou outros critérios selecionados pelo usuário, e assim comparar dentre as amostras dos tratamentos. Essa análise proteômica deveria ser totalmente descartada pois não segue os mínimos padrões de desenho experimental e análise estatística.

A empresa proponente afirma que a seqüência truncada 35SPv1 com potencial de transcrição e tradução é o promotor *P35S* com uma seqüência do feijoeiro (Folha 67). A partir da Folha 67 até a Folha 77 as informações foram consideradas confidenciais. Esse tipo de informação é extremamente importante para as avaliações de segurança alimentar e ambiental e de nada se justifica pela propriedade intelectual. Novamente, a proponente pede confidencialidade, a CTNBio aceita e a comunidade científica não tem acesso a informação relevantes do ponto de vista da biossegurança. Os autores do presente documento não tiveram acesso às informações consideradas confidenciais e, portanto, a presente análise não pode considerar outros aspectos que uma empresa pública jamais poderia esconder de seus contribuintes.



Sarah Z. Agapito-Tenfen



Rubens O. Nodari.