



COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA
PARECER TÉCNICO Nº 179/2023/SEI-CTNBio - Membros
PARECER TÉCNICO 8396/2023

Processo: 01245.019073/2022-89

Requerente: Suzano S.A

Data de Protocolo: 25/10/2022

SEI: 10554398

CQB: 325/11

Endereço: Av. Dr. José Lembo, 1010 – s/A – Jardim Bela Vista –
Itapetininga/SP

Presidente da CIBio: Eduardo José de Mello

Extrato Prévio:8575/2022

Assunto: Liberação comercial de Eucalipto geneticamente modificado –
Evento 955P082

Descrição do OGM: Eucalipto geneticamente modificado – Evento 955P082

Decisão: DEFERIMENTO

Reunião: 259a. Reunião Ordinária ocorrida em 02/03/2023

Fundamentação Técnica

A CIBio da Suzano S.A. (FuturaGene – Divisão de Biotecnologia), detentora do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) nº 0325/11 encaminha proposta fundamentada na Resolução Normativa nº 32 de 15 de junho de 2021, de liberação comercial do Eucalipto Geneticamente Modificado – Evento 955P082, com o respectivo Relatório de Biossegurança com os dados

gerados em laboratório e casas de vegetação, e em experimentos de campo conduzidos no Brasil.

O evento 955P082 foi desenvolvido pela Suzano, paralelamente ao eucalipto geneticamente modificado evento 955S019 aprovado pela CTNBio (Extrato de Parecer Técnico nº 8.072/2022). A construção genética utilizada nos eventos 955P082 e 955S019 é a mesma denominada FGN#955, que possui os genes: cp4 epsps e nptII, traduzido nas proteínas CP4 EPSPS e NPTII. Não há diferença nas regiões reguladoras entre os dois eventos, como promotores e terminadores. A diferença entre os dois eventos está no clone convencional utilizado como base para transformação genética e na localização do inserto no genoma.

O eucalipto 955P082 expressa as proteínas CP4 EPSPS e NPTII. As plantas do eucalipto, evento 955P082, apresentam tolerância aos herbicidas formulados à base do princípio ativo glifosato, devido à expressão da proteína CP4 EPSPS. A proteína NPTII é utilizada como marcador de seleção no processo de transformação genética, por conferir resistência a antibióticos do grupo dos aminoglicosídeos, como a canamicina, gentamicina e neomicina. O germoplasma de eucalipto que foi utilizado como recipiente inicial dos genes exógenos para obtenção do eucalipto evento 955P082 é um clone híbrido de *Eucalyptus urophylla*, denominado FGN-P. A análise de sequenciamento do DNA (NGS, Sequenciamento de Nova Geração) identificou duas cópias invertidas do T-DNA da construção FGN#955 em um único sítio de inserção no genoma do eucalipto 955P082.

Caracterização Molecular

O eucalipto 955P082 foi produzido pelo método de transformação genética mediada por *Rhizobium radiobacter*1 (também reconhecido como *Agrobacterium tumefaciens*) utilizando o plasmídeo pBI121. O vetor contém os cassetes de expressão do gene cp4 epsps, e do gene nptII. A construção FGN#955 presente no eucalipto evento 955P082 possui 2 (duas) cópias do gene cp4 epsps, sendo uma delas regulada pelo promotor 35S do Cauliflower mosaic virus (CaMV) e a outra pelo promotor sub-genomic transcript (Sgt) do Figwort mosaic virus (FMV), sendo ambas as cópias controladas pelo terminador NOS de *Agrobacterium tumefaciens*. A expressão do gene nptII é regulada pelo promotor e pelo terminador 35S do Cauliflower mosaic virus (CaMV). O promotor 35S está fusionado à sequência TEV (5'UTR, região não traduzida) do Tobacco etch virus (TEV), que funciona como um intensificador da tradução em plantas. Não existem diferenças nas construções genéticas utilizadas para a obtenção dos dois eucaliptos geneticamente modificados 955S019 e 955P082. O eucalipto 955S019, já aprovado pela CTNBio, foi obtido por meio da transformação genética do clone convencional FGN-S, já o eucalipto 955P082, foi obtido por meio da

transformação genética do clone convencional FGN-P. O mesmo plasmídeo, denominado FGN#955, foi utilizado para obtenção dos dois eventos geneticamente modificados. A obtenção de eventos geneticamente modificados utilizando uma mesma construção genética, mas utilizando como recipientes clones convencionais distintos, é fundamental para garantir a introgressão da característica de tolerância ao herbicida glifosato em outras bases genéticas, viabilizando a utilização da característica em regiões com características edafoclimáticas diferentes, além de evitar o estreitamento da base genética da população de melhoramento genético. Além disso, algumas particularidades inerentes ao melhoramento genético do eucalipto exigem que diferentes genótipos sejam transformados geneticamente com uma mesma característica biotecnológica de interesse, como por exemplo, a depressão endogâmica, que inviabiliza a realização de retrocruzamentos e o longo ciclo de melhoramento (~12 anos). No presente caso, os dois eventos tolerantes ao herbicida glifosato foram gerados por processos de transformação independentes. O evento 955S019 obteve a inserção do T-DNA no cromossomo 03, do clone recipiente FGN-S (*E. urophylla*), já no evento 955P082 a inserção do T-DNA foi no braço superior do cromossomo 06 com uma recombinação com o braço inferior do cromossomo 02, do clone recipiente FGN-P (*E. urophylla*). O eucalipto 955P082 foi desenvolvido com o objetivo de fornecer ao produtor florestal brasileiro mais uma alternativa simples, eficiente e ambientalmente favorável para o controle de plantas daninhas por meio da aplicação pós emergência de herbicidas a base de glifosato, sem causar dano e/ou injúria ao cultivo. Esse novo evento de eucalipto tolerante ao glifosato foi obtido por meio da transformação genética do clone convencional FGN-P, reconhecido como importante base genética por ter ampla adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas e por ser um bom parental, sendo utilizado em cruzamentos no programa de melhoramento genético.

O gene *cp4 epsps* inserido no eucalipto 955S019 confere tolerância ao herbicida glifosato. Esse gene codifica a proteína CP4 EPSPS de aproximadamente 47 kDa, consistindo em um polipeptídeo único de 455 aminoácidos. A proteína EPSPS pertence a uma família de enzimas presentes em plantas e em microrganismos, porém ausente em mamíferos, peixes, aves, répteis e insetos, por não possuírem a via metabólica para a síntese do peptídeo (Alibhai e Stallings 2001). Essa proteína atua na via do chiquimato, que é responsável pela biossíntese de aminoácidos essenciais (fenilalanina, triptofano e tirosina), bem como metabólitos secundários em plantas (Amarante Junior et al. 2002). Na via do chiquimato, a enzima EPSPS catalisa a transferência do grupo enolpiruvil a partir de piruvato de fosfoenol (PEP) ao 5-hidroxil de shiquimato-3-fosfato (S3P), produzindo fosfato inorgânico e 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato para a biossíntese dos aminoácidos (Alibhai e Stallings 2001) e (Monquero et al. 2004). O gene *nptII* codifica a proteína neomicina fosfotransferase tipo II (NPTII), de 29 kDa, contendo 264

aminoácidos, que tem ação de resistência a antibióticos como a neomicina e a canamicina. A proteína NPTII é uma proteína de *E. coli*, uma enterobactéria presente na flora intestinal do homem e de animais. O gene *nptII* utilizado em transformação de plantas é derivado do transposon Tn5 de *E. coli* (Beck et al. 1982). A proteína NPTII é produzida por vários microrganismos procarióticos encontrados de forma ubíqua no meio ambiente, em habitats aquáticos e terrestres. O modo de ação da proteína NPTII é bem caracterizado, sendo responsável pela inativação de antibióticos 2 *Rhizobium radiobacter* (também reconhecido como *Agrobacterium tumefaciens* - <https://www.uniprot.org/taxonomy/358>). Nesse documento, optou-se por utilizar apenas o termo *A. tumefaciens*. DocuSign Envelope ID: C996A02B-0276-4F41-8EC9-6AAAC76C5FD1

23 aminoglicosídeos como a canamicina, gentamicina e neomicina. Em plantas geneticamente modificadas (GM) usadas na alimentação, a proteína NPTII é degradada em fluidos gástricos e intestinais simulados (Fuchs et al. 1993). O eucalipto 955S019 expressa a proteína CP4 EPSPS, que confere tolerância ao herbicida glifosato. Mesmo mediante ao contato com o herbicida, a planta mantém a produção de aminoácidos aromáticos essenciais ao seu crescimento e desenvolvimento, viabilizando o controle eficaz de plantas daninhas em pós emergência sem causar injúrias à cultura do eucalipto GM. Essa tecnologia é amplamente difundida no Brasil e em outros países, com biossegurança amplamente avaliada e comprovada.

Aspectos ambientais

A requerente encaminha a avaliação de risco simplificada, baseada no parecer favorável da CTNBio para a Liberação Comercial do Eucalipto Geneticamente Modificado Evento 955S019, que apresenta construção genética idêntica à do evento 955P082. Estudos a campo conduzidos, com autorização da CTNBio, demonstraram a eficácia e praticabilidade econômica do uso do eucalipto 955S019 em condições de cultivo no Brasil. Os resultados desses estudos demonstraram também que o eucalipto 955S019 é similar ao seu clone convencional, não transformado, em características fenotípicas e silviculturais. O eucalipto 955S019, à semelhança do eucalipto convencional, não apresenta comportamento invasivo em ecossistemas naturais. Não há vantagem competitiva para a sobrevivência ou dispersão do eucalipto 955S019, quando comparado ao eucalipto convencional. Foram realizados estudos de composição química de folhas do eucalipto 955S019 comparativamente ao clone convencional. Foram quantificados os teores de proteínas totais, extrato etéreo, carboidratos, resíduo mineral fixo, valor energético, minerais, fibras e umidade. Os resultados comprovaram que o eucalipto 955S019 não difere do eucalipto convencional em sua composição química, exceto pela presença e expressão do gene *cp4 epsps*, que confere tolerância ao herbicida glifosato, e do gene *nptII*, que confere tolerância ao antibiótico Canamicina, atuando como marcador de seleção. As características

da planta geneticamente modificada coletadas durante os testes de campo, bem como nas análises laboratoriais apresentadas neste documento, comprovam que o cultivo do eucalipto 955S019 é seguro ao meio ambiente e à saúde humana e animal, não diferindo do clone de eucalipto convencional original, não transformado. A tecnologia presente no eucalipto 955S019 terá impacto positivo no setor florestal brasileiro, viabilizando a adoção de práticas modernas de controle de plantas daninhas, práticas já consolidadas no setor agrícola. O eucalipto 955S019 é uma alternativa importante para atender às necessidades dos produtores de eucalipto no Brasil, possibilitando redução significativa nos custos operacionais e promovendo maior segurança ambiental e melhoria nas condições de trabalho dos trabalhadores. Por esse motivo, a Suzano S.A. vem, por meio deste documento, requerer a emissão de decisão técnica para liberação comercial do eucalipto e seus derivados com o evento 955S019, nos termos da Resolução Normativa no 32 da CTNBio, do Decreto no 5.591/05 e da Lei n o 11.105/05.

Aspectos da Saúde Humana e Animal

As características da planta geneticamente modificada coletadas durante os testes de campo, bem como nas análises laboratoriais apresentadas neste documento, comprovam que o cultivo do eucalipto 955S019 é seguro ao meio ambiente e à saúde humana e animal, não diferindo do clone de eucalipto convencional original, não transformado. A tecnologia presente no eucalipto 955S019 terá impacto positivo no setor florestal brasileiro, viabilizando a adoção de práticas modernas de controle de plantas daninhas, práticas já consolidadas no setor agrícola. O eucalipto 955S019 é uma alternativa importante para atender às necessidades dos produtores de eucalipto no Brasil, possibilitando redução significativa nos custos operacionais e promovendo maior segurança ambiental e melhoria nas condições de trabalho dos trabalhadores.

PARECER:

A requerente Suzano S.A., por meio deste documento, requerer à CTNBio a emissão de decisão técnica para liberação comercial do Eucalipto Geneticamente Modificado – Evento 955P082, nos termos da Resolução Normativa Nº. 32 da CTNBio.

A requerente informa que o evento 955P082 foi desenvolvido de forma paralela ao evento 955S019 aprovado pela CTNBio (Extrato de Parecer Técnico nº 8.072/2022) . A construção genética utilizada nos eventos 955P082

e 955S019 é a mesma denominada FGN#955, que possui os genes: cp4 epsps e nptII, traduzido nas proteínas CP4 EPSPS e NPTII. Não há diferença nas regiões reguladoras entre os dois eventos, como promotores e terminadores. A diferença entre os dois eventos está no clone convencional utilizado como base para transformação genética e na localização do inserto no genoma. O eucalipto 955S019, já aprovado pela CTNBio, foi obtido por meio da transformação genética do clone convencional FGN-S, já o eucalipto 955P082, foi obtido por meio da transformação genética do clone convencional FGN-P.

Em face do Art. 12º da Resolução Normativa no . 32 de 15 de junho de 2021 da CTNBio, que dispõe sobre normas para liberação comercial de Organismos Geneticamente Modificados e seus derivados, a requerente apresentou avaliação de risco simplificada, baseada no parecer favorável da CTNBio para a Liberação Comercial do Eucalipto Geneticamente Modificado Evento 955S019, que apresenta construção genética idêntica à do evento 955P082. Não houve identificação de riscos não-negligenciáveis na avaliação de risco conduzida. Portanto, e de acordo com as disposições da RN 32/2021 não apresentou plano de monitoramento pós-liberação comercial.

No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, bem como os critérios internacionalmente aceitos para avaliação de segurança de alimentos e matérias primas geneticamente modificadas, considera-se que os dados de biossegurança do evento 955P082 atendem às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal. Assim, atendidas as condições descritas no processo e neste parecer técnico, essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou saúde humana.

Data: 02/03/2023

Paulo Augusto V. Barroso
Presidente da CTNBio