



**COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA**  
**PARECER TÉCNICO Nº 1400/2022/SEI-CTNBio - Membros**  
**Parecer Técnico 8281/2022**

**Processo:** 01245.007581/2022-14

**Assunto:** Liberação comercial de Eucalipto geneticamente modificado –  
Evento 751K022

**Data de Protocolo:** 17/05/2022

**SEI:** 9886699

**Requerente:** Suzano S.A

**CQB:** 325/11

**Total de Páginas:** 119

**Descrição do OGM:** PROPOSTA DE LIBERAÇÃO COMERCIAL DO  
EUCALIPTO 751K022

**Classificação:** Classe de Risco I

**Reunião:** 256a. Reunião ordinária ocorrida em 10/11/2022

**Decisão:** DEFERIDO

**Fundamentação Técnica**

A CIBio da Suzano S.A. (FuturaGene – Divisão de Biotecnologia), detentora do Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) n o 0325/11 encaminha proposta fundamentada na Resolução Normativa n o 32 de 15 de junho de 2021, de liberação comercial do Eucalipto Geneticamente Modificado – Evento 751K022, com o respectivo Relatório de Biossegurança do Eucalipto 751K032, bem como os dados gerados em laboratório e casas de vegetação, no Brasil e em Israel, e em experimentos de campo conduzidos no Brasil.

O evento 751K022 foi desenvolvido pela Suzano, paralelamente ao evento já aprovado 751K032 (Extrato de Parecer Técnico nº 7.788/2021). A construção genética utilizada nos dois eventos é idêntica, denominada #751, 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 cromossomo onde o T-DNA foi inserido, o evento 751K032 foi inserido no cromossomo 10, e o evento 751K022 foi inserido no cromossomo 05.

A presente Proposta de Liberação Comercial do Eucalipto 751K022 foi elaborada de acordo com o 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, no qual foi realizada a avaliação de risco simplificada, baseada no parecer favorável da CTNBio para a Liberação Comercial do Evento 751K032, que apresenta construção genética idêntica ao evento 751K022.

O eucalipto 751K022 expressa as proteínas CP4 EPSPS e NPTII. As plantas do eucalipto, evento 751K022, 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 751K022 é um clone híbrido de *Eucalyptus urophylla*, denominado FGN-K, que é o mesmo clone utilizado para obtenção do evento previamente aprovado, 751K032. A análise do sequenciamento de nova geração identificou apenas uma cópia do T-DNA inserida no genoma do eucalipto 751K022.

O eucalipto 751K022 foi produzido pelo método de transformação genética mediada por *A. tumefaciens* utilizando o plasmídeo pBI121. O vetor contém os cassetes de expressão do gene cp4 epsps, e do gene nptII. A expressão do gene cp4 epsps é regulada pelo promotor 35S do Cauliflower mosaic virus (CaMV) que está ligado à sequência Omega (região 5' não traduzida (5'UTR) do Tobacco etch virus (TEV)) que funciona como um intensificador da tradução em plantas e pelo terminador NOS de *A. tumefaciens* na extremidade 3'. 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.

## **Caracterização Molecular**

O DNA genômico do evento 751K022 foi isolado pelo método CTAB e quantificado por espectrofotometria. Para construção da biblioteca, cerca de 0,5 µg de DNA genômico do evento foram cortados em fragmentos de comprimento médio de 250 pb, usando a enzima double strand (ds) fragmentase do Kit New England Biolab (NEB) (M0248). A biblioteca foi sequenciada na plataforma Illumina Hiseq2500, utilizando uma lane individual, com leituras (pairedends) de 150pb. Após o sequenciamento da biblioteca, os reads (sequências) de qualidade foram alinhados contra a sequência do vetor FGN#751 usando o software Geneious versão 11 (<http://www.geneious.com>, (Kearse, et al., 2012)). Os reads que foram mapeados para a sequência do T-DNA foram usados para montar o mapa de inserção. Os reads que foram mapeados para a sequência do T-DNA e do genoma foram usados para identificar a localização do inserto no genoma do eucalipto 751K022.

A análise do sequenciamento de nova geração identificou apenas uma cópia do T-DNA inserida no genoma. Nenhum read foi mapeado para a sequência do vetor (backbone) no sequenciamento.

Os reads (sequências) que atenderam os padrões de qualidade exigidos foram alinhados contra a sequência do vetor FGN#751, permitindo identificar a localização do T-DNA no genoma do eucalipto 751K022. No mínimo 15 reads foram mapeados para cada junção e, com base nesses dados, foram construídos dois contigs de aproximadamente 1300 pb de cada lado. De acordo com a análise do NGS, um fragmento de 5 pb de DNA genômico foi duplicado e encontrado tanto na região upstream como na região downstream do genoma. Um fragmento de 23 pb foi excluído upstream no local de inserção

A requerente apresentou Alinhamento do produto do resultado de sequenciamento de DNA do gene cp4 epsps (1371 pb), do evento 751K032 comparado com a sequência de DNA do 751K022. Os resultados indicam 100% de identidade entre o gene cp4 epsps presente no T-DNA do evento 751K032, comparado ao gene cp4 epsps do evento 751K022. Para o alinhamento foi utilizado o algoritmo de alinhamentos múltiplos Clustal Omega (Clustal Omega < Multiple Sequence Alignment < EMBLEBI). O mesmo padrão de identidade foi observado para o gene nptII.

Os mesmos resultados de identidade foram observados para a proteína CP4EPSPS e a proteína NPTII.

### **Aspectos ambientais**

A requerente realizou testes para Crescimento em altura de plantas do eucalipto 751K022 e 751K032 (após aplicações do herbicida glifosato dirigida

sobre as plantas, aos 30 e 60 dias após o plantio), e de plantas do genótipo base, FGN-K (manejo convencional, protegendo as plantas do contato com o herbicida glifosato). Não houve interferência no desenvolvimento de árvores do eucalipto 751K022, mesmo após aplicações dirigidas sobre as plantas, aos 30 e 60 dias após o plantio, com o herbicida glifosato (2,0 Kg equivalente ácido por hectare), por meio da comparação com o clone convencional FGN-K, manejado sem aplicações do herbicida glifosato (controle mecânico das plantas daninhas)

A requerente solicita isenção do plano de monitoramento pois não foram identificados riscos não negligenciáveis na avaliação de risco do eucalipto 751K032, nem na avaliação de risco simplificada do eucalipto 751K022. De acordo com o Artigo 18 da Resolução Normativa nº 32, de 15 de junho de 2021, que dispõe sobre as normas para liberação comercial e monitoramento de animais e vegetais Geneticamente Modificados - OGM e seus derivados de origem vegetal e animal, estarão isentos de monitoramento pós-liberação comercial, OGMs de Classe de Risco 1 que não tiverem identificação de risco não negligenciável.

#### **PARECER:**

Dessa forma, no âmbito das competências do Art. 14 da Lei 11.105/05, para efeito de sua liberação no meio ambiente, seu uso comercial e quaisquer outras atividades relacionadas a esse OGM e qualquer progênie dele derivada, atende 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: 10/11/2022**

**Paulo Augusto V. Barroso**  
**Presidente da CTNBio**