



**COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA**  
**PARECER TÉCNICO Nº 669/2022/SEI-CTNBio - Membros**  
**Parecer Técnico**

**Relator: Dr. Luiz Filipe Protasio Pereira**

**O PRESENTE FORMULÁRIO NÃO POSSUI INFORMAÇÕES CONFIDENCIAIS**

**Processo:** 01245.002847/2022-32

**Assunto:** Liberação comercial de Eucalipto geneticamente modificado – Evento 955S019

**Data de Protocolo:** 24/02/2022

**SEI:** 9510597

**Requerente:** Suzano S.A

**CQB:** 325/11

**Total de Páginas:** 808

**Descrição do OGM:** PROPOSTA DE LIBERAÇÃO COMERCIAL DO EUCALIPTO 955S019

**Classificação:** Classe de Risco I

**Fundamentação Técnica**

A requerente encaminha a proposta para liberação comercial do Eucalipto Geneticamente Modificado 955S019 (denominado posteriormente como FGN-Ø3S19-5), portador do gene cp4 epsps, que codifica a proteína CP4 EPSPS, que confere tolerância ao herbicida glifosato. A aprovação comercial do eucalipto 955S019 poderá trazer benefícios aos produtores florestais, e será uma ferramenta importante no manejo integrado de plantas daninhas. Em plantios de eucalipto, plantas daninhas competem diretamente por recursos como água, nutrientes e luz, principalmente ao longo do primeiro ano de cultivo, reduzindo significativamente a produtividade da cultura. A competição com plantas daninhas pode reduzir a produtividade em até 50 %, podendo reduzir a rentabilidade em mais de 90 % (Hakamada et al., 2010).

O eucalipto 955S019 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, que codifica a proteína 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), proveniente da cepa CP4 de *A. tumefaciens*, e do gene nptII, que codifica a neomicina fosfotransferase tipo II (NPTII), oriundo de *Escherichia coli*. A construção presente no eucalipto evento 955S019 possui duas cópias do gene cp4 epsps regulada pelo promotor 35S do Cauliflower mosaic virus (CaMV) e pelo promotor sub-genomic transcript (Sgt) do Figwort mosaic virus (FMV), sendo ambos os genes controlados pelo terminador NOS de *Agrobacterium tumefaciens*. A expressão do gene nptII é controlada pelo promotor e pelo terminador 35S do CaMV. A requerente já possui aprovação comercial do eucalipto 751K032 que possui apenas uma cópia do gene epsps.

**A proteína EPSPS.**

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. 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. Hoje existem cerca de 151 eventos aprovados (mundialmente) com o gene

A classificação de risco do eucalipto 955S019 enquadra-se como se segue: • Classe de Risco 1 (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade): O OGM que contém sequências de DNA/RNA de organismo doador e receptor que não causem agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente.

O eucalipto (organismo receptor) é largamente utilizado no plantio de florestas para a obtenção de madeira para os mais diversos usos. O gene *cp4 epsps*, inserido no evento 955S019, é isolado de *Agrobacterium* sp. cepa CP4 (organismo doador), e expressa a enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (CP4 EPSPS), proteína não tóxica, que promove a tolerância aos efeitos do herbicida glifosato nas árvores transformadas. Esta mesma proteína está presente em outras culturas como milho, soja e algodão, com amplo histórico de uso seguro. Temos mundialmente cerca de 150 eventos aprovados contendo o gene *cp4 epsps*

**Genes marcadores de seleção *NPTII*.** O gene *nptII* codifica a proteína neomicina fosfotransferase tipo II (NPTII), de 29 kDa, que tem ação de resistência sobre a atuação de antibióticos como a neomicina e a canamicina. A proteína NPTII é uma proteína de *E. coli* modificada. O gene *nptII* utilizado em transformação de plantas é derivado do transposon Tn5 de *E. 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 canamicina, gentamicina e neomicina. Temos mundialmente cerca de 120 eventos aprovados contendo o gene *NPTII*

### Caracterização Agronômica:

O clone convencional FGN-S (Parental), base genética do eucalipto 955S019, é um híbrido de *E. urophylla* S.T. Blake selecionado na região de Conceição da Barra, ES, em um plantio seminal formado a partir de sementes procedentes das ilhas de Timor, na Indonésia. O *E. urophylla* S.T. Blake está classificado na Série Resiniferae, pertencente à Secção Transversaria, do Subgênero *Symphyomyrtus*. É uma espécie tropical que ocorre naturalmente em diversas Ilhas da Indonésia: Timor, Flores, Lomblem, Alor, Adonara, Pantar e Wetar.

Os resultados do teste de Qui-quadrado estão resumidos na Tabela I-12. Os resultados permitiram concluir que o fragmento de t-DNA contendo os genes *cp4 epsps* e o gene *nptII* do eucalipto 955S019 mantem-se intacto e segrega em proporção mendeliana nas duas progênies dos cruzamentos 955S019 x FGN-AK e 955S019 x FGN-P

### Dados moleculares

O T-DNA do vetor pBI121 contém, após as modificações por clonagem, três cassetes de expressão, dois para o gene *cp4 epsps* e outro para o gene *nptII* (ou neo). O primeiro cassete no T-DNA contém a sequência codificadora do gene *cp4 epsps* ligada ao peptídeo de trânsito para cloroplasto (CTP2) de *Arabidopsis thaliana*. Esse cassete é regulado pelo promotor 35S do Cauliflower mosaic virus (CaMV), que está ligado ao enhancer Omega, e o terminador NOS na extremidade 3'. O segundo cassete no T-DNA, que continha originalmente a sequência codificadora do gene *nptII*, para expressão da enzima neomicina-fosfotransferase tipo II (NPTII), regulada pelo promotor e terminador NOS, foi substituído pela sequência codificadora do gene *nptII* otimizada para eucalipto sob o controle do promotor 35S ligado a sequência enhancer do Tobacco etch virus (TEV) e o terminador CaMV na extremidade 3'. Posteriormente foi adicionada mais uma sequência do gene *cp4 epsps* sob o controle do promotor Sgt do FMV e pelo terminador NOS. O cassete de expressão do gene neomycin phosphotransferase II (*nptII*), controlado pelo promotor e terminador NOS do plasmídeo pBI121 original, foi substituído pelo gene sintético (Genewiz) contendo a sequência codante (CDS) do gene *nptII* otimizada para expressão em *Eucalyptus*, sob o controle do promotor 35S de Cauliflower mosaic virus (CaMV), fusionado a sequência enhancer do Tobacco etch virus (TEV) e o terminador CaMV na extremidade 3'. Este cassete foi clonado usando as enzimas de restrição BstZ17I/PmeI-HindII.

A caracterização do T-DNA inserido no eucalipto 955S019 foi realizada por meio de análises de Southern blot e sequenciamento de DNA (NGS). Os resultados mostraram que o eucalipto 955S019 contém uma inserção do T-DNA no genoma, com duas cópias funcionais do gene *cp4 epsps* e uma cópia funcional do gene *nptII*. As análises de sequenciamento confirmaram a ausência de sequências indesejadas de DNA no genoma do eucalipto, como por exemplo fragmentos do plasmídeo bacteriano. As regiões flangeadoras ao inserto foram alinhadas com o banco de dados do genoma de referência de *E. grandis* (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>). As regiões flangeadoras foram mapeadas no cromossomo 03 do genoma. De acordo com o banco de dados de referência, nenhum gene foi interrompido pela inserção e o gene mais próximo encontra-se cerca de 23 Kpb *upstream* do local de inserção.

Os estudos de segregação do inserto em progênies obtidas por meio de cruzamentos controlados envolvendo o eucalipto 955S019 e matrizes convencionais não transformadas, confirmaram a segregação mendeliana para o inserto, contendo os genes *cp4 epsps* e *nptII*, comprovando a integridade do evento 955S019, por meio da estabilidade da segregação do inserto nas progênies.

Os ensaios no Brasil, compreenderam 9 liberações planejadas no meio ambiente. As proteínas CP4 EPSPS e NPTII foram caracterizadas bioquimicamente e quantificadas através de análise ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) específica. A expressão das proteínas foi avaliada em folha jovem, folha madura, ramo e pólen

A caracterização do DNA inserido no eucalipto 955S019 foi conduzida por meio de análises de Southern blot e sequenciamento de DNA (NGS). Os resultados mostraram que o eucalipto 955S019 contém uma cópia do T-DNA, sendo duas cópias funcionais do gene *cp4 epsps* e uma cópia funcional do gene *nptII*, ou seja, da mesma forma como foi construído o plasmídeo

O produto da expressão dos genes *cp4 epsps* e *nptII* foi avaliado por teste imunoenzimático ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), para detectar e quantificar a concentração das proteínas CP4 EPSPS e NPTII nos diferentes tecidos do eucalipto 955S019 e em diferentes estágios de desenvolvimento da cultura.

Um estudo de quantificação da expressão das proteínas CP4 EPSPS e NPTII do eucalipto 955S019 e do controle convencional correspondente FGN-S, foi conduzido em amostras de tecidos de plantas de eucalipto obtidas de 2 (duas) localidades, Unidade Operativa da Fazenda Cabreúva no município de Angatuba/SP e Unidade Operativa da Fazenda Fortaleza no município de Araraquara/SP.

Para o estudo de expressão das proteínas foram coletadas amostras de ramo, folha jovem e folha madura (6, 12 e 30 meses após o plantio) do eucalipto 955S019 e do controle convencional FGN-S e amostras de pólen de plantas produzidas em vasos na casa de vegetação. As amostras compostas de ramo, folha jovem e folha madura foram retiradas de 5 árvores em cada parcela.

### **Análises agronômicas e ambientais**

Nenhum efeito pleiotrópico ou epistático foi observado em plantas do eucalipto 955S019 decorrentes da presença dos genes *cp4 epsps* e *nptII*, quer em características fenotípicas, agronômicas, morfológicas, reprodutivas e composicional em experimentos em contenção, realizados desde sua obtenção em casa de vegetação, e a campo, realizados sob Liberações Planejadas no Meio Ambiente (LPMAs).

Para determinar a viabilidade dos grãos de pólen, sub-amostras de pólen do eucalipto 955S019 e dos controles não-GM foram distribuídas em lâminas de vidro e mantidas em câmara úmida (UR > 80 %) por 15 minutos. Após a reidratação, os grãos de pólen foram corados com solução de carmim acético (2 %, m:v) e observados em microscópio óptico (400x). Sub-amostras com viabilidade > 70 % foram consideradas adequadas para os testes de germinação

A germinabilidade nas amostras 8403 e 8405 (eucalipto 955S019) atingiu percentuais de 46,4 e 52,5 %, respectivamente, e não diferiu do controle clone convencional WT-FGN-S (43,4 % na amostra 3404); Da mesma forma, a germinação dos grãos de pólen da amostra 8403 não diferiu das amostras da referência comercial WT-FGN-K (37,6 % na amostra 221; A amostra 8405 resultou em grãos de pólen com

germinabilidade superior ao controle externo WT-FGN-K (52,5 % e 37,6 %, respectivamente; 47 B), conforme Teste T de Student ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados comparativos do eucalipto 955S019 e seu clone convencional FGN-S demonstraram que a germinabilidade dos grãos de pólen aumenta significativamente ao longo do tempo em todas as amostras testadas, com exceção da amostra G0221-02A, clone FGN- K, na qual não foi detectada diferença estatística entre os tempos avaliados

Um ensaio de germinação de sementes de eucalipto em condições de campo foi realizado com o objetivo de avaliar comparativamente o estabelecimento do evento 955S019 e do seu clone correspondente convencional FGN-S, além de duas referências comerciais convencionais, EGR003026 e PA160025. Os ensaios foram realizados nas Unidades Operativas da Suzano S.A. (CQB 0325/11), Fazenda Cabreúva (Angatuba/SP) e Fazenda Chave de Ouro (Caravelas/BA), a requerente apresentou dados que permitem concluir que - Mesmo em condições favoráveis para germinação, dificilmente o eucalipto se estabelece via sementes no campo. O eucalipto 955S019 não diferiu estatisticamente de seu controle convencional correspondente FGN-S, bem como das referências comerciais convencionais EGR003026 e PA160025.

Foram realizados estudos para caracterizar fenotipicamente o eucalipto 955S019, através de sua interação com patógenos e avaliar a curva fotossintética de resposta à luz, em comparação com o seu controle FGN-S. Para a avaliação fenotípica, de características de uma planta perene foram realizadas diversas observações e medições, a fim de comparar a fenologia do eucalipto 955S019, com seu controle FGN-S e com as referências comerciais convencionais (clone FGN-K e FGN-P). As avaliações usaram como base o documento das Instruções para Execução de Ensaios de Registro de Variedade junto ao Serviço Nacional de Proteção de Cultivares do Ministério da Agricultura

Para a coleta dos dados, foram utilizadas amostras de plantas, dos quatro materiais genéticos em estudo, coletados na LPMA processo CTNBio n o 01250.059591/2017-07, instalada nas Unidade Operativas das Fazenda Cabreúva (Angatuba/SP), Fazenda Fortaleza (Araraquara/SP), Fazenda Chave de Ouro (Caravelas/BA) e Fazenda São Bento (Açailândia/MA).

Os ensaios foram instalados em 4 localidades de propriedade da Suzano S.A. (CQB 325/11), em delineamento de blocos casualizados, com 5 repetições por localidade, nas seguintes Unidades Operativas: Fazenda Cabreúva, município de Angatuba/SP; Fazenda Fortaleza, município de Araraquara/SP; Fazenda Chave de Ouro, município de Caravelas/BA; e Fazenda São Bento, município de Açailândia/MA. Foram avaliadas medidas de folhas dos tratamentos, do eucalipto 955S019, de seu correspondente clone convencional FGN-S e 2 (dois) clones convencionais usados como referência comercial, FGN-K e FGN-P.

**A requerente apresentou dados** de características fenotípicas de folhas do eucalipto 955S019, comparados com os dados de seu correspondente clone convencional FGNS, e de duas referências comerciais convencionais (FGN-S e FGN-P), coletados em ensaios em quatro localidades representativas da cultura do eucalipto, em três estádios de desenvolvimento da planta (6, 12 e 24 meses após o plantio), indicando que o eucalipto geneticamente modificado 955S019 não difere fenotipicamente do eucalipto parental convencional FGN-S que o deu origem através de processo de transformação genética.

Um segundo estudo comparativo de características fenotípicas de plantas de eucalipto em desenvolvimento foi realizado com a avaliação do número de estômatos de folhas aos 12 e 24 meses de idade do eucalipto 955S019, de seu correspondente clone convencional FGN-S, e de (2) duas referências comerciais de eucalipto convencional. O objetivo do estudo foi identificar possíveis alterações fenotípicas decorrentes do processo de transformação genética. Aqui também um grande volume de dados foi coletado para se poder detectar diferenças quantitativas entre o clone GM e seu controle convencional. O estudo foi realizado em ensaios instalados em 4 (quatro) unidades de propriedade da Suzano S.A. (CQB 325/11), em delineamento de blocos casualizados, com 5 repetições por localidade, com 4 tratamentos: eucalipto GM evento 955S19, seu controle convencional FGN-S e duas referências comerciais, FGN-K e FGN-P. As avaliações da quantidade de estômatos foram feitas em plantas de 12 e de 24 meses de idade, em ensaios nas seguintes Unidades Operativas: Fazenda Cabreúva, em Angatuba/SP; Fazenda Fortaleza, em Araraquara/SP; Fazenda Chave de Ouro, em Caravelas/BA; e Fazenda São Bento, em Açailândia/MA (Processo CTNBio n o 01250.059591/2017-07).

Não houve diferença no número de estômatos observados em folhas coletadas em plantas, com 12 e 24 meses de idade, do eucalipto 955S019 e do seu respectivo clone convencional não transformado, FGN-S, cultivadas em 4 (quatro) ambientes distintos.

Também foi avaliada a resistência à ferrugem do eucalipto 955S019 e do seu respectivo clone convencional não transformado, FGN-S. Mudanças desses genótipos foram inoculadas em condições controladas com dois isolados de *Austropuccinia psidii*, UFV2 e EUBA1, pertencentes às raças 1 e 4, respectivamente e avaliadas 21 dias após a inoculação de acordo com a escala de nota de severidade. Mudanças com cerca de 90 dias de idade foram enviadas em tubetes e transplantadas para sacolas de 2 L de capacidade, contendo substrato Tropstrato V6, acrescido de supersimples e de Osmocote. As plantas foram mantidas em condições de casa de vegetação até a época da inoculação, cerca de 30 dias após o transplante. O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado com dez réplicas por material genético. Os ensaios demonstraram que a resposta de plantas de eucalipto às raças fisiológicas da ferrugem *A. psidii*, que o clone 955S019 apresentou a mesma resposta de susceptibilidade ao patógeno que seu clone convencional FGN-S.

### Capacidade Fotossintética

Os parâmetros fotossintéticos foram determinados por meio de leituras com o aparelho LI- 6800 para medir trocas gasosas e fluorescência em folhas. O nível de fotossíntese foi aferido sob 10 intensidades de luz (ativação da radiação fotossintética), variando de zero a 2600  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . As curvas de resposta a luz foram utilizadas para determinar os seguintes parâmetros fisiológicos: Taxa fotossintética máxima (Amax); Taxa de respiração noturna (Rd); Eficiência da luz quântica (AQY); Ponto de transição da luz (LTP) e Ponto de saturação da luz (LSP).

O eucalipto 955S019 manteve todos os parâmetros fotossintéticos normais após a aplicação do herbicida glifosato sobre suas folhas e ramos. O clone convencional, FGN-S, apresentou sintomas visuais de fitotoxicidade, e apresentou redução de todos os parâmetros fisiológicos avaliados. Não foram observadas diferenças nos parâmetros fotossintéticos do eucalipto 955S019, nos tratamentos com ou sem herbicida.

O eucalipto 955S019 é equivalente ao seu clone convencional quanto à sua composição química (cinza, calorias, carboidratos, umidade, gordura e proteínas). Também não houve diferenças entre os componentes analíticos da análise centesimal, fibras e minerais, exceto potássio, que apresentou uma pequena diferença significativa para o eucalipto 955S019, porém dentro do intervalo das referências comerciais FGN-K e FGN-POs.

### Efeitos em organismos não alvos

Os estudos comparativos do efeito do eucalipto 955S019 e de seu clone convencional FGN-S em organismos não alvo, realizados ao longo de 3 (três) anos, nas quatro localidades, indicaram que o eucalipto 955S019, que expressa as proteínas CP4 EPSPS e NPTII, não causa impacto significativo nas populações de artrópodes não alvo que habitam as áreas cultivadas com plantações de eucalipto.

### Abelhas Teste de toxicidade das proteínas CP4 EPSPS e NPTII em operárias imaturas

A toxicidade das proteínas CP4 EPSPS e NPTII para larvas de *A. mellifera* foi avaliada de acordo com o protocolo internacional OECD 237. As proteínas CP4 EPSPS e NPTII foram adicionadas diretamente ao alimento larval, a partir de exposição única, no 4º dia de alimentação do experimento. Os resultados demonstram que tais proteínas não apresentaram efeitos na sobrevivência das operárias, larvas e adultas de *A. mellifera*, expostas em um cenário realístico de exposição (1x o valor expresso das proteínas nos grãos de pólen de eucalipto). Este cenário de exposição às proteínas projeta uma situação extrema, dado que as abelhas procuram fontes diversificadas para coletar pólen.

Na análise da abundância dos artrópodes não-alvo amostrados com o auxílio da armadilha de Pitfall, não foram observadas diferenças significativas entre os índices de Diversidade ( $H'$ ), Equitabilidade ( $J$ ), e Riqueza ( $S$ ) da comunidade dos artrópodes não alvo, dos tratamentos dos eucaliptos 955S019, FGN-K, FGN-P e FGN-S, nas localidades de Araraquara/SP, Angatuba/SP, Caravelas/BA e Açailândia/MA, indicando que não houve alteração da comunidade de artrópodes em função do cultivo do eucalipto 955S019.

Não foram observadas diferenças significativas na análise da abundância dos artrópodes não-alvo amostrados com o auxílio dos funis de Berlese – Tüllgren entre os índices de Diversidade ( $H'$ ), Equitabilidade ( $J$ ), e Riqueza ( $S$ ) da comunidade dos artrópodes não alvo, entre os tratamentos 955S019, FGN-K, FGN-P e FGN-S em todas as localidades, indicando que o eucalipto 955S019 e os cultivos convencionais possuem composição populacional de artrópodes semelhante

Os resultados da abordagem através das curvas de resposta principal demonstram similaridade na composição das espécies, distribuídas temporalmente, nos tratamentos (S5) 955S019, (S7) FGN-K, (S8) FGN-P e (S9) FGN-S, indicando ausência de efeitos adversos sobre artrópodes não alvo em decorrência do cultivo do eucalipto 955S019.

A abordagem ecológica da análise das comunidades através das guildas tróficas (predadores, polívoros, fitófagos e detritívoros) não evidenciou efeito adverso do eucalipto 955S019 nos grupos funcionais em comparação ao eucalipto convencional FGN-S.

### **Análise da Microbiota**

A requerente também fez estudos de diversidade microbiana em solos 1-2 meses após o plantio dos ensaios de quatro diferentes áreas, Fazenda Cabreúva em Angatuba/SP, Fazenda Fortaleza em Araraquara/SP, Fazenda Chave de Ouro em Caravelas/BA e Fazenda São Bento em Açailândia/MA, pode-se concluir que a diversidade microbiana (fungos e bactérias) do solo da parcela experimental do eucalipto 955S019 não difere do solo das parcelas experimentais dos eucaliptos convencionais, seja de seu clone convencional não modificado FGN-S, da referência comercial I - FGN-K ou da referência comercial II - FGN-P.

### **Estudo de degradabilidade da biomassa do eucalipto geneticamente modificado contendo o evento 955S019**

Foi conduzido um estudo com o objetivo de avaliar, em condições de campo, se ocorre equivalência entre o material vegetal geneticamente modificado e o material convencional quanto à biodegradabilidade dos restos culturais no solo, ou seja, a decomposição de ramos do eucalipto 955S019 comparado ao seu correspondente clone convencional FGN-S. O Eucalipto 955S019 (GM) e o eucalipto FGN-S (clone convencional correspondente), foram similares na curva de degradação da matéria orgânica pelas variáveis avaliadas, ambos apresentando também certa semelhança com as referências comerciais.

### **Avaliação de Risco para Saúde Humana e Animal.**

Um estudo para demonstrar a similaridade na composição química do eucalipto 955S019, e de seu clone correspondente convencional FGN-S, foi realizado no Brasil em 4 (quatro) Unidades Operativas: Fazendas Cabreúva, em Angatuba/SP, Fortaleza em Araraquara/SP, Chave de Ouro em Caravelas/BA e São Bento em Açailândia/MA, durante os anos de 2018 a 2021. O ensaio foi realizado em LPMA aprovada pela CTNBio, processo 01250.059591/2017-07. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com 5 (cinco) repetições por local, com os seguintes tratamentos: eucalipto 955S019, FGN-S e 2 (duas) referências comerciais convencionais, FGN-K e FGN-P. Cada parcela foi constituída de 4 linhas de plantio com 4 plantas em cada linha. Em conformidade com os requisitos regulamentares, as parcelas experimentais foram cercadas por 2 (duas) linhas de bordadura de uma variedade de eucalipto comercial. Para manutenção da sanidade da cultura, práticas apropriadas de controle de insetos, de plantas daninhas e de doenças foram aplicadas nas parcelas experimentais.

As análises proporcionam uma abrangente avaliação da composição química de folhas (estádio 6 a 7 meses) do eucalipto 955S019. Para todos os analitos avaliados (cinzas, calorias, carboidratos, gordura, proteína, unidade) nesse estudo, o eucalipto 955S019 foi estaticamente indistinguível do seu correspondente clone convencional FGN-S.

Procedeu-se a uma análise para avaliar, por meio de análises de bioinformática, a potencial alergenicidade da proteína CP4 EPSPS usando o banco de dados FASTA atualizado e de acordo com diretrizes regulatórias globais reconhecidas e estabelecidas. A sequência de aminoácidos da CP4 EPSPS foi preparada no formato FASTA e a pesquisa implementada utilizando as ferramentas do banco de dados de alérgenos COMPARE. A sequência foi analisada em fragmentos sequencialmente sobrepostos de 80 aminoácidos (aa) (janela deslizante). Seguindo as diretrizes estabelecidas sobre a avaliação de segurança de alimentos derivados da

biotecnologia moderna para alergenicidade potencial (CODEX, 2009 e FAO/WHO, 2001), cada fragmento de 80 aa foi pesquisado pelo programa FASTA (Pearson, 1990) no banco de dados de alérgenos COMPARE 2020, que inclui 2348 alérgenos conhecidos. Nenhum limite acima da similaridade de sequência foi detectado a partir dos alinhamentos pela pesquisa FASTA da sequência de proteína CP4 EPSPS contra o banco de dados de alérgenos COMPARE 2020. Além disso, nenhuma correspondência exata contígua de 8 aa foi identificada ao comparar a sequência da proteína CP4 EPSPS com todos os alérgenos conhecidos no banco de dados COMPARE 2020.

A proteína CP4 EPSPS (5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase) é derivada de *Agrobacterium* e não é uma fonte conhecida de alérgenos. Culturas geneticamente modificadas que expressam a proteína CP4 EPSPS foram aprovadas em muitos eventos e comercializadas por décadas em importantes plantas cultivadas e foram consideradas seguras. Também não há evidências de potencial de alergenicidade na proteína NPTII, que corrobora com dados publicados de mais de 20 anos da proteína NPTII, que valida a sequência de aminoácidos da proteína NPTII como não tendo nenhuma semelhança com proteínas consideradas alergênicas a humanos e / ou animais.

Junto com outros testes que são conduzidos durante a avaliação de segurança de culturas geneticamente modificadas, a digestibilidade das proteínas no fluido gástrico simulado (SGF) também foi examinada e a proteína CP4 EPSPS foi prontamente digerida por pepsina (não detectável em 30 segundos) em condições gástricas simuladas (pH 1,2, 37 °C), conforme demonstrado por SDS-PAGE e análise de Western blot imuno-específica. Este resultado é consistente com os obtidos em mais de 20 anos de pesquisas relatadas anteriormente.

### Risco Ambiental

O Brasil não possui um centro de diversidade do gênero *Eucalyptus*, por se tratar de organismos exóticos no país. Não há no território brasileiro, e em nenhum país das Américas, espécies vegetais nativas que sejam sexualmente compatíveis com o eucalipto. Portanto, é praticamente nulo o risco de fluxo gênico entre espécies do gênero.

Os resultados das LPMAs indicaram que o eucalipto 955S019 não possui características que possam caracterizá-lo como planta invasora ou representar algum risco ecológico quando comparado ao eucalipto convencional de origem ou à variedades comerciais convencionais.

A característica introduzida no eucalipto 955S019, que confere tolerância a herbicidas a base de glifosato, não provoca alterações na sua capacidade de sobrevivência quando comparado ao seu clone convencional de origem, FGN-S.

Os resultados das LPMAs também demonstram que não há risco para organismos não alvo, como abelhas e outros artrópodes. Também não houve diferenças com relação a densidade e diversidade microbiana nas LPMAs.

Estudos de biodegradabilidade dos restos culturais no solo demonstraram o mesmo nível de degradação da matéria orgânica entre o eucalipto 955S019 e seu clone convencional de origem, FGN-S.

### PARECER:

Tendo em vista as análises e resultados apresentados, e levando em consideração o histórico seguro de utilização dos genes *EPSPS* e *NPTII*, em centenas de organismos geneticamente modificados, incluindo *E. urophylla*, não foi possível observar riscos não negligenciáveis no processo.

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 **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/animal.

**Data: 01/08/2022**

**Luiz Filipe Protasio Pereira**  
**Membro da CTNBio**



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Filipe Protasio Pereira, Membro da CTNBio, representante da Sec. Especial de Agricultura Familiar e Desenvolvimento Agrário**, em 01/08/2022, às 23:32 (horário oficial de Brasília), com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.mcti.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador **9943199** e o código CRC **A7AC020A**.

**Referência:** Processo nº 01245.002847/2022-32

SEI-CTNBio - Membros nº 9943199