

EVALUACIÓN DE RIESGOS
Algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701- CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Nombre del solicitante BASF QUIMICA COLOMBIANA S.A.	2. Nombre del contacto Luis Fernando Martínez García.
3. Dirección del solicitante Calle 99 # 69C-32 Bogotá, Colombia Teléfono: 6322260 Ext.1978	4. Dirección del contacto Calle 99 # 69C-32 Bogotá, Colombia Teléfono: 6322260 Ext.1978
5. Nombre del producto (Identificador Único y otros nombres) Identificador OECD: BCS-GH811-4 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 Otros Nombres: GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701	
6. Objetivo de la solicitud Autorización de uso del Algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
7. Aprobaciones y usos en otros países El evento GHB811 ha sido aprobado en Argentina, Australia, Canadá, Colombia, Filipinas, Paraguay y República de Corea. El evento T304-40 ha sido aprobado en Argentina, Canadá, China, Colombia, Corea del Sur, Costa Rica, Estados Unidos, Filipinas, Japón, Malasia, Nueva Zelanda, Taiwán, Unión Europea y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento GHB119 ha sido aprobado en Argentina, Australia, Canadá, China, Corea del Sur, Costa Rica, Estados Unidos, Filipinas, Japón, Malasia, Nueva Zelanda, Taiwán, Unión Europea y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento COT102 ha sido aprobado en Australia, Canadá, China, Colombia, Corea de Sur, Costa Rica, Estados Unidos, Filipinas, Japón, México, Nueva Zelanda, Taiwán y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento MON88701 ha sido aprobado en Argentina, Australia, Canadá, Corea del Sur, Costa Rica, Estados Unidos, Filipinas, Japón, Malasia, Nueva Zelanda, Taiwán, Unión Europea y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701, según la información suministrada por el usuario está aprobado en Australia, Canadá, Corea (MSFD), Estados Unidos y Japón. Y ha sido solicitado para autorización de uso a los organismos reguladores en Corea (RDA) y Singapur quedando en espera el concepto respectivo de cada País.	

8. Algún otro uso aprobado en Colombia:

Tabla 1. Aprobación y fecha de la aprobación de cada uno de los eventos individuales.

Evento	Tipo de aprobación	Fecha de aprobación	Número de resolución ICA
GHB811	Uso animal	24 de julio de 2020	072112
T304-40	Uso animal	11 de mayo de 2017	00005400
GHB119	Uso animal	17 de enero de 2018	00019228
COT102	Uso animal	27 de noviembre de 2014	004131
MON88701	Uso animal	14 de abril de 2016	00004009
T-304-40 x GHB119 x COT102	Uso animal	29 de diciembre de 2020	082363

Las subcombinación T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 y cada evento individual, tienen aprobación de uso en el país, por parte del ICA, como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal (Tabla 1).

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL ORGANISMO VIVO MODIFICADO - OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores:

Familia: Malvaceae

Género: *Gossypium*

Especie: *G. hirsutum* L

Nombre común: Algodón

Línea de mejoramiento: Coker 12, Coker 315, otras líneas.

2. Descripción de la modificación genética:

Las plantas de algodón provenientes del evento GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 presentan tolerancia al ataque de un rango de insectos del orden Lepidóptera y presenta tolerancia a los herbicidas con los i.a. glufosinato de amonio, glifosato, dicamba y HPPD (como el ixosaflutol).

Evento GHB811

Gen *hppdPf W336*: Codifica para la enzima hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD). La secuencia codificante *hppdPf W336* fue desarrollada introduciendo una mutación puntual en el gen silvestre *hppd* derivado de *Pseudomonas fluorescens*. La expresión de la proteína HPPD W336 confiere tolerancia a los inhibidores de HPPD, tales como el herbicida isoxaflutole.

Los inhibidores de la HPPD bloquean la actividad de la enzima HPPD, implicada en la síntesis de carotenos. Esto impide la pigmentación en los cotiledones y/o hojas nuevas (de las especies blanco) que en estas condiciones serán incapaces de fotosintetizar.

Gen *2mepsps*: Codifica para la proteína 2mepsps. La secuencia codificante de 2mepsps fue desarrollada introduciendo dos mutaciones puntuales en el gen silvestre *epsps* clonado de maíz (*Zea mays*). La expresión de la proteína 2mepsps confiere tolerancia a herbicidas con base en glifosato.

La proteína 2mepsps es una enzima homóloga a la EPSPS endógena del algodón (y otras

plantas y microorganismos) pero a diferencia de ésta, posee mayor afinidad por su sustrato (fosfoenolpiruvato) que, por el herbicida glifosato, permitiendo que la síntesis del corismato y de los aminoácidos aromáticos continúe del mismo modo en que lo haría en ausencia del glifosato, siendo ésta la base para la tolerancia al herbicida.

Evento T-304-40

Gen *Cry1Ab*: Codifica la proteína insecticida Cry1Ab que confiere protección contra el ataque de ciertos insectos lepidópteros. El producto del gen *Cry1Ab* es una forma truncada de una proteína δ -endotoxina. La proteína Cry1Ab es cortada proteolíticamente en el intestino alcalino de los lepidópteros resultando en una forma insecticida activa. La proteína insecticida activa interactúa con una molécula receptora presente solamente en las células del epitelio del intestino medio de los insectos susceptibles, provocando poros en las membranas de las células. Como resultado, el balance osmótico celular es perturbado, las células se hinchan y sufren lisis. Las larvas de los insectos susceptibles cesan de comer y mueren.

Gen *bar*: Codifica la enzima fosfinotricin acetyl transferasa (PAT), cuya función es acetilar al grupo aminoácido libre del glufosinato para producir N-acetil glufosinato no herbicida y así lo desintoxica de la planta.

Evento GHB119

Gen *Cry2Ae*: Codifica la proteína insecticida Cry2Ae, que confiere la protección contra el ataque de ciertos insectos lepidópteros.

Gen *bar*: Codifica la enzima fosfinotricin acetyl transferasa (PAT), cuya función es acetilar al grupo aminoácido libre del glufosinato para producir N-acetil glufosinato no herbicida y así lo desintoxica de la planta.

Evento COT102

Gen *Vip3Aa19*: Codifica la proteína Vip3Aa19 es una exotoxina estructural, funcional y bioquímicamente distinta de las endotoxinas Bt delta (o proteínas Cry). Confiere protección contra el ataque de ciertos insectos lepidópteros.

Gen *aph4*: Codifica para expresar la enzima fosfotransferasa de higromicina B (APH4), que cataliza la fosforilación de higromicina. APH4 funciona como un marcador seleccionable dominante en las etapas iniciales de laboratorio de la selección de células vegetales como células que expresan APH4 y son capaces de sobrevivir y crecer en la presencia de higromicina. La higromicina no se utiliza en la medicina clínica y la proteína APH4 no tiene ningún papel en el final del cultivo del algodón.

Evento MON88701

Gen *dmo*: El gen *dmo* se deriva de la bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* (Palleroni y Bradbury, 1993). *S. maltophilia* es omnipresente en el medio ambiente y se encuentra asociada con la rizosfera de las plantas.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Tipo de modificación genética

Inserción	Delección	Sustitución de bases	Fusión celular	Otro: Cruzamiento convencional de eventos individuales
-----------	-----------	----------------------	----------------	--

2. Método usado para transformar la planta

El algodón GLIXTP se ha obtenido mediante cruce tradicional entre los eventos de transformación BCS-GH811-4 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, no se ha efectuado nuevas modificaciones genéticas.

Los métodos de transformación utilizados en los eventos individuales fueron:

Evento GHB811

El evento de transformación GHB811 en *Gossypium hirsutum* fue producido por transformación mediada por *Agrobacterium*, usando el vector el cual contiene los casetes de expresión de los genes *hppdPFW336-1Pa* y *2mepsps*.

Se germinaron las semillas de algodón de la variedad Coker312 en medio Murashige & Skoog (MS). Se disectaron fragmentos de hipocolito, que fueron transformados con el vector pTSIH09 utilizando el método de *Agrobacterium tumefaciens* para transformación del hipocolito de algodón. Subsecuentemente, estos hipocólitos fueron incubados en MS para cocultivo. Después de este procedimiento, fueron transferidos a un medio MS para inducción de callo. Este medio contenía Ticarcilina, para eliminar los residuos de *A. tumefaciens* y glifosato para el desarrollo de callo embrionógico (CE). El CE transformado fue subcultivado en medio MS conteniendo glifosato para la inducción de embriones. Los embriones fueron germinados en medio apropiado para regeneración y producción de plántulas. Una vez desarrolladas, las plántulas fueron transferidas al invernadero y se testearon más adelante para su tolerancia con herbicidas inhibidores de HPPD, después de los cuales permitieron la floración y producción de semilla.

Evento T304-40

El algodón modificado genéticamente derivado del evento de transformación T304-40 se obtuvo mediante transformación de tejidos de la variedad de algodón Coker 315 con el vector pTDL008. Utilizando *A. tumefaciens*, método por el cual se realiza un co-cultivo de la bacteria con los plásmidos que llevan los casetes de transformación y explantes de la planta de algodón, se transfieren los explantes a un medio que contiene el agente de selección para las células transformadas. Los brotes transformados se transfieren a nuevos medios de selección para propiciar el crecimiento de los brotes, plantas y ser trasplantados a invernadero.

Evento GHB119

El algodón modificado genéticamente derivado del evento de transformación GHB119 se obtuvo mediante la transformación de tejidos de la variedad de algodón Coker 312 con el

vector pTEM12, utilizando *A. tumefaciens*.

Después de un co-cultivo, los tejidos de algodón fueron cultivados en medio selectivo con glufosinato de amonio. Al medio se añadió Clarofan (250 o 125 mg/l) para eliminar los residuos de *A. tumefaciens*. Una vez formado el callo ha sido transferido en el medio de regeneración con glufosinato de amonio. Se ha incluido el Clarofan (250 o 125 mg/l) en el medio de cultivo hasta obtener un tejido libre de *Agrobacterium*. Una vez se han formado los embriones somáticos, estos se han transferido en medios de germinación de fosfinotricina. Las plántulas se han transferido en el invernadero, y una vez que se ha comprobado su tolerancia al glufosinato de amonio, se han hecho crecer para la producción de semillas.

Evento COT102

El evento parental COT102 se obtuvo mediante transformación de algodón Coker 312 con *Agrobacterium tumefaciens*, utilizando el vector de transformación pCOT1, que contiene los genes *Vip3Aa19* y *aph4*. La transformación se llevó a cabo mediante la incubación de células de *Agrobacterium*, que contiene el vector de transformación pCOT1, con el tejido del hipocotilo de algodón y posterior recubrimiento del tejido en medio de cultivo sintético que contiene higromicina B. Las plantas se regeneraron y analizaron individualmente para la presencia del gen *Vip3Aa19* por reacción en cadena de polimerasa (PCR) y técnicas para la bioactividad insecticida. Las plantas transformadas T₀ seleccionadas fueron auto - polinizadas para producir semillas T₁ y una única línea designada de plantas homocigóticas COT102 fue seleccionada de la generación T₁ para su posterior reproducción.

Evento MON88701

El evento de transformación MON88701 se desarrolló a través de la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* con el plásmido PV-GHHT6997 en hipocotilos de algodón. En resumen, se extirparon segmentos de hipocótilo de plántulas cultivadas en la oscuridad de semillas Coker. Después del cultivo conjunto con *Agrobacterium* que lleva el vector, los segmentos de hipocótilo. Las plantas positivas homocigotas que contenían una sola inserción de ADN-T se identificaron mediante una combinación de técnicas analíticas que incluyeron aplicaciones de dicamba y glufosinato, PCRs y análisis de transferencia Southern, lo que resultó en la producción de algodón MON88701 tolerante a dicamba y glufosinato.

3. Fuente y función pretendida de cada constituyente del fragmento de ADN insertado

Evento GHB811

Tabla 2. Casete de expresión del gen *HppdPfw336-1Pa* (SAH)-Evento GHB811 **(CONFIDENCIAL)**

Elemento Genético	Origen (Organismo donante)	Tamaño (pb)	Posición en el vector	Descripción	Función.
ThistonAt(SAH)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	667	83-749	Secuencia que incluye la 3'UTR del gen de la histona H4 de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Región terminadora
<i>HppdPfw336-1Pa</i> (SAH)	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1077	766-1842	Secuencia codificante del gen 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa de <i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa A32 modificado con el reemplazo del residuo glicina 336 por triptófano, adaptado para el uso de codones de algodón.	Confiere tolerancia a herbicidas inhibidores de HPPD.

TPotpY-1Pa (SAH)	<i>Zea mays</i> y <i>Helianthus annuus</i>	372	1843-2214	Secuencia que codifica para un derivado de péptido de tránsito optimizado (posición 55 cambiada a Tirosina), que contiene la secuencia de la subunidad pequeña de RuBisCO de <i>Zea mays</i> y <i>Helianthus annuus</i> (Lebrun et al., 1996), adaptado para el uso de codones de algodón	Péptido de tránsito.
Pcsmv (SAH)	Cassava Vein Mosaic Virus	513	2223-2735	Secuencia promotora del Cassava Vein Mosaic Virus	Promotor

SAH: Sentido contrario a las agujas del reloj en la representación del plásmido.

SH: en el sentido de las agujas del reloj en la representación del plásmido.

¹ Funcional en el OVM.

Tabla 3. Casete de expresión del gen **2mepsps**-evento GHB811 **(CONFIDENCIAL)**

Elemento Genético	Origen (Organismo donante)	Tamaño (pb)	Posición en el vector	Descripción	Función.
Ph4a748(SH)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	917	2834-3750	Secuencia que incluye la región promotora del gen de la histona H4 de <i>Arabidopsis thaliana</i>	Promotor
Intron1 h3At (SH)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	466	3790-4255	Variante del primer intrón del gen II de la histona H3.III de <i>A. thaliana</i>	Intrón
TPotpC (SH)	<i>Zea mays</i> y <i>Helianthus annuus</i>	372	4269-4640	Secuencia codificante del péptido de tránsito optimizado, que contiene la secuencia del gen de la subunidad pequeña de la R	Péptido de tránsito
2mepsps (SH)	<i>Zea mays</i>	1338	4641-5978	Confiere tolerancia al herbicida glifosato.	Codifica para proteína doble mutante 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase de <i>Zea mays</i>
ThistonAt (SH)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	667	5999-6665	Secuencia 3'UTR de la histona H4 de <i>A. thaliana</i> .	Terminador

SAH: Sentido contrario a las agujas del reloj en la representación del plásmido.

SH: en el sentido de las agujas del reloj en la representación del plásmido.

¹ Funcional en el OVM.

Evento T304-40

Tabla 4. Elementos funcionales del T-ADN transferido-evento T304-40 **(CONFIDENCIAL)**

Posición	Orientación	Origen de la secuencia
8767-8791		RB: Repetición del borde derecho del ADN-T de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>
8792-9728	Sentido contrario-Manecillas del reloj	3'me1: contiene la región 3' no codificante del gen de la enzima NADP-malic de <i>Flaveria bidentis</i> (yellowtop)
9729-11582	Sentido contrario-Manecillas del reloj	<i>Cry1Ab</i> : Secuencia codificante del gen de la proteína Cry1Ab (MetAlaAsp2 Asp616) de <i>Bacillus thuringiensis berliner</i> 1715
11583-11643	Sentido contrario-Manecillas del reloj	5'e1: Contiene la secuencia líder del gen E1 específico del tapetum (<i>GE1</i>).
11644-12685	Sentido contrario-Manecillas del reloj	Ps7s7: Secuencia que incluye la región promotora duplicada derivada del segmento 7 del genoma del virus subterráneo del trébol (clover stunt).

12686-13543	Sentido manecillas del reloj	P35S3: Secuencia que incluye la región promotora del transcripto 35S de CaMV
13544-14095	Sentido manecillas del reloj	bar: Secuencia codificante del gen fosfinotricin acetil transferasa de <i>Streptomyces hygroscopicus</i>
14096-14393 1-12	Sentido manecillas del reloj	3'nos: Secuencia que incluye la región 3' no codificante del gen nopalina sintetasa del ADN-T de pTiT37
13-37		LB: Repetición del borde izquierdo del ADN-T de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>

Evento GHB119

Tabla 5. Elementos funcionales del T-ADN TRANSFERIDO – Evento GHB119. (CONFIDENCIAL)

Posición	Orientación	Origen de la secuencia
1-25		LB: Repetición del borde izquierdo del ADN- T. de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>
26-335	Sentido contrario-manecillas del reloj	3'nos: Secuencia que incluye la región 3' no codificante del gen nopalina sintetasa del ADN-T de PtiT37
336-887	Sentido contrario-manecillas del reloj	bar: : Secuencia codificante del gen fosfinotricin acetil transferasa de <i>Streptomyces hygroscopicus</i>
888-1423	Sentido contrario-manecillas del reloj	Pcsmv XYZ: Secuencia que incluye la región promotora del virus en mosaico Cassava Vein
1424-1920	Sentido manecillas del reloj	P35S2: Secuencia que incluye la región promotora del transcripto 35S del virus del mosaico de la coliflor.
1921-1990	Sentido manecillas del reloj	5'cab22L: Incluye la secuencia líder del gen de la proteína de unión a clorofila alb de <i>Petunia hybrida</i>
1991-2155	Sentido manecillas del reloj	TPssuAt: Secuencia codificante del péptido de tránsito del gen at1 Sa de la subunidad pequeña de la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa de <i>Arabidopsis thaliana</i>
2156-4051	Sentido manecillas del reloj	Cry2Ae: Secuencia codificante de una proteína insecticida de <i>Bacillus thuringiensis</i> adaptada al uso de codones de algodón.
4052-4320	Sentido manecillas del reloj	3'35S: Incluye la región 3' no codificante del transcripto 35S de CaMV
4321-4345		RB: Repetición del borde derecho del ADN-T de A. <i>tumefaciens</i>

Evento COT102

Tabla 6. Elementos funcionales del T-ADN transferido – Evento COT102 (CONFIDENCIAL)

Elemento Genético	Localización en pCOT1(bp)	Tamaño (bp)	Función
Act2	3204-4611	1408	Región promotora del gen de la actina-2 de <i>Arabidopsis thaliana</i> y su intron. Promueve la expresión del gen <i>vip3Aa19</i> .
<i>vip3Aa19</i>	4621-6996	2370	El gen sintético <i>vip3Aa19</i> usado en transformaciones de plantas codifica una proteína Vip3Aa19
Terminador NOS	7016-7268	253	Secuencia terminadora del gen de la nopalina sintasa de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Su función es proveer un sitio de polyadenilación.
Ubq3	1433-3153	1721	Región promotora más el primer intron de la ubiquitina3(<i>ubi3</i>) de <i>Arabidopsis thaliana</i> .
<i>aph4</i>	376-1026	1026	El gen <i>aph4</i> codifica para una enzima fosfotransferasa(higromicina B fosfotransferasa; una aminociclitol fosfotransferasa; una aminociclitol fosfotransferasa)
Terminador NOS	90 - 342	253	Secuencia terminadora del gen de la nopalina sintasa de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Su función es proveer un sitio de poliadenilación.

Evento MON88701

Tabla 7. Elementos funcionales del T-ADN transferido -evento MON88701. (CONFIDENCIAL)

Elemento Genético	Ubicación en el Vector(bp)	Función
Región Borde Derecho	1-331	Región de ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> que contiene la secuencia del borde derecho usada para la transferencia del ADN
PC1SV	434-866	El gen sintético <i>vip3Aa19</i> usado en transformaciones de plantas codifica una proteína Vip3Aa19. Promotor del transcripto Full-Length (FLt) del caulimovirus de raya clorótica de maní (PC1SV) que dirige transcripción en células vegetales
TEV	873-1004	Secuencia terminadora del gen de la nopalina sintasa de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Su función es proveer un sitio de polyadenilación. Secuencia líder utr de 5' del ARN del virus del grabado del tabaco (TEV) que participa en la regulación de la expresión génica
CTP2	1006-1233	Secuencia dirigida del gen <i>ShkG</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> que codifica la región peptídica de tránsito EPSPS que dirige el transporte de la proteína al cloroplasto
Dmo	1234-2256	Secuencia de codificación optimizada para codones para la proteína dicamba monooxigenasa (DMO) de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> que confiere tolerancia a dicamba
E6	2311-2625	Secuencia UTR 3' del gen E6 de <i>Gossypium barbadense</i> (algodón) que codifica una proteína de fibra implicada en desarrollo temprano de fibras que dirige la poliadenilación del ARNm
e35S	2638-3249	Promotor del ARN 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV) que contiene la región potenciadora duplicada que dirige la transcripción en células vegetales
Hsp70	3253-3348	Secuencia líder 5' UTR del gen <i>DnaK</i> de <i>Petunia hybrida</i> que codifica la proteína de choque térmico 70 (HSP70) que participa en la regulación de la expresión génica
Bar	3355-3906	Secuencia de codificación para la Proteína fosfotransferasa N-acetiltransferasa (PAT) de <i>Streptomyces hygroscopicus</i> que confiere tolerancia al glufosinato
Nos	3912-4164	Secuencia 3' UTR del gen de la nopalina sintasa (nos) de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> que codifica NOS que dirige la poliadenilación
Región Borde Izquierdo	4184-4625	Región de ADN de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> que contiene la secuencia del borde izquierdo utilizada para la transferencia del ADN-T

4. Diferencias del evento y Cultivar convencional

En principio, el evento de algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 es sustancialmente equivalente al algodón convencional.

En términos generales, este evento, no presenta diferencias biológicas significativas con respecto a los algodones convencionales. Los estudios de características agronómicas y nutricionales, muestran que no habría diferencias significativas entre el evento conjunto, los eventos individuales y los testigos convencionales.

La gran diferencia se basa en la expresión de siete proteínas transgénicas, que fueron introducidas por el cruce de los cinco eventos transgénicos, las cuales son: 2mepsps Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3A19, PAT, dmo y bar que le confieren resistencia al ataque de ciertos insectos lepidópteros y tolerancia a la aplicación del herbicida glufosinato de amonio glifosato, dicamba y HPPD (como isoxaflutol).



5. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto:

Se realizó un estudio (Van de Wiele, 2018) con la finalidad de demostrar la estabilidad estructural de los loci transgénicos de las líneas parentales del algodón GHB811x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 en plantas de algodón individuales conteniendo el evento GLIXTP mediante análisis de Southern blot.

En conclusión, la estabilidad estructural de los loci transgénicos de las líneas de algodón parental GHB811, T304-40, GHB119, COT102 y MON88701 se demostró en el algodón GHB811x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701.

JUSTIFICACIÓN DE LA INTRODUCCIÓN DEL Algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 COMO ALIMENTO PARA CONSUMO ANIMAL

Particularmente en Colombia el cultivo del algodón en el año 2020 en lo referente a área sembrada fue de aproximadamente 9.532 has (Conalgodon,2021), con 4825 has de algodón GM (Agrobio,2021).

Las zonas de producción están condicionadas por factores climáticos debido a que la mayor o menor calidad de la fibra depende, en gran medida, de la temperatura, la luz y el agua. En Colombia se pueden lograr dos temporadas algodonerías en el año, lo que permite garantizar la continuidad en la oferta.

El algodón ha sido cultivado por cientos de años, con el objetivo de obtener fibra, la que es hilada y utilizada para la elaboración de tejidos. Por el contrario, su semilla fue históricamente desperdiciada, a excepción de la utilidad como alimento para el hombre y el ganado que se le ha dado en Estados Unidos y en otros pocos países.

En la actualidad, los principales productos obtenidos con fines alimentarios a partir de la semilla de algodón son: aceite, torta y harina, cáscaras, linters, semillas sin deslinter y semillas deslinteradas.

El objetivo buscado con el cruzamiento GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 es la introducción de la coexistencia, tolerancia a herbicidas con i.a. glufosinato de amonio, glifosato y HPPD (como isoxaflutol) y resistencia al ataque de ciertos insectos lepidópteros en el cultivo de algodón.

II. EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS POTENCIALES DEL ALGODÓN GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701

La evaluación de los riesgos potenciales se hará teniendo en cuenta la siguiente Matriz¹:

		ESTIMACION DEL RIESGO ¹		
Probabilidad	Muy Probable	Moderado	Alto	Muy Alto
	Probable	Bajo	Moderado	Alto
	Poco Probable	Insignificante	Bajo	Moderado
		Menores	Intermedias	Mayores
		Consecuencias		

¹ Un **riesgo insignificante** es considerado insustancial, cuando no hay necesidad de realizar acciones para su mitigación. Un **riesgo bajo** es considerado Mínimo, pero hay necesidad de tomar medidas de mitigación más allá de las prácticas normales. Un **riesgo moderado** se considera de notable preocupación y que se requieren medidas de mitigación que deben ser demostradas como eficaces. Un **riesgo alto** se considera inaceptable a menos que las medidas de mitigación son altamente viables y eficaces. Un **riesgo Muy alto** se considera inaceptable.

A. POTENCIAL DE QUE EL ALGODON GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 SE CONVIERTA EN MALEZA O INVADA AMBIENTES NATURALES

Caracterización del riesgo

El uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, por lo tanto, no se prevé este riesgo.

Probabilidad de ocurrencia

Teniendo en cuenta que el uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, la ocurrencia de este riesgo es **Poco Probable**.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia.

Parámetros de rendimiento de campo, reproducción, fecundidad susceptibilidad a plagas fueron evaluados y se encontró que no hay cambios en comparación con la contraparte convencional. Esto confirma que el algodón producto del apilado, no tiene ventajas selectivas, ni características que posibiliten que se convierta en malezas diferentes a la de sus parientes silvestres.

De otra parte, no se prevé consecuencias por cuanto el uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal. La semilla de algodón no tiene características que hagan suponer que pueda convertirse en maleza o permanecer por largos periodos en el suelo. En caso de persistir luego de la cosecha no llega en general a la campaña siguiente debido a que se degrada fácilmente con la humedad del suelo. Las consecuencias para este riesgo se consideran **Menores**.

Estimación del riesgo

Teniendo en cuenta la probabilidad de ocurrencia y las consecuencias, se puede concluir que el riesgo de que el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 se convierta en maleza o invada ambientes naturales es **Insignificante**.

B. POTENCIAL DEL ALGODON GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 DE TRANSFERIR GENES A VARIEDADES CRIOLLAS O PLANTAS SEXUALMENTE COMPATIBLES

Caracterización del riesgo.

El uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, por lo tanto, no se prevé este riesgo.

Probabilidad de ocurrencia

Teniendo en cuenta que el uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701

es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, la ocurrencia de este riesgo es **Poco Probable**.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia.

De llegar a ocurrir un escape del grano para uso como semilla o liberación al ambiente, de acuerdo a estudios realizados para determinar la efectividad de las distancias de aislamiento para controlar el flujo de genes, en diferentes zonas agroecológicas en Colombia, a 50m de la fuente de polen, la polinización cruzada fue inferior de 1% (ICA, 2006). En otros trabajos, realizados en diferentes partes, se concluyó que la polinización cruzada ocurría a una distancia máxima de 200m de la fuente de polen; a 10m contenían niveles inferiores a 0.9%, a 100m sólo un número limitado de polinización cruzada ocurría y a 300m no había evidencia de la ocurrencia de este fenómeno (Luna et al., 2001; Weber et al., 2007).

Otro aspecto que hay que tener en cuenta es que el cruce entre diferentes materiales, no implica una fijación de una característica dentro de una población. Para ello debe darse el fenómeno de introgresión.

La introgresión de una característica, sea dada por ingeniería genética o por cruce convencional, es un proceso dinámico que toma muchos años y muchas generaciones antes que la característica se fije en el contenido genético de una raza, una variedad, una línea o un pariente silvestre. En este caso debe haber una selección prolongada de las plantas que presentan el carácter de interés y someterla a muchos ciclos.

Teniendo en cuenta lo anterior sumado a que el uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, las consecuencias para este riesgo se consideran **Menores**.

Estimación del riesgo

Teniendo en cuenta la probabilidad de ocurrencia y las consecuencias, se puede concluir que el riesgo de que el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 transfiera genes a variedades criollas o plantas sexualmente compatibles es **Insignificante**.

C. POTENCIAL DEL ALGODON GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 DE AFECTAR A ORGANISMOS NO BLANCO.

Caracterización del riesgo

En relación al algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 cada una de las proteínas transgénicas presentes en este evento, ya han sido evaluadas y probadas para establecer su inocuidad en organismos no objetivos.

El algodón GLIXTP fue desarrollado por medio del cruzamiento convencional de los eventos de algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701. El cruzamiento no implica nuevas modificaciones genéticas y sólo las proteínas en los eventos parentales (HPPD W336, 2mepsps, PAT, Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3Aa19, APH4, DMO BAR) son expresadas.

Ni el algodón GLIXTP o los eventos parentales individuales (GHB811, T-304-40, GHB119, COT102 x MON88701) tuvieron ningún efecto sobre organismos no objetivo. Por lo tanto, es muy poco probable que el apilado GLIXTP tenga algún efecto sobre los organismos no blanco.

No existen razones para pensar que la patogenicidad, toxicidad y alergenicidad para los seres humanos, del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701, sea diferente a su contraparte convencional. Así mismo, tal y como se indicó supra, el uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal y no se espera que se generen liberaciones intencionales al ambiente que puedan afectar a otros vertebrados y/o artrópodos no blancos.

Probabilidad de ocurrencia

Teniendo en cuenta que el uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal y que la posibilidad de que tenga efectos tóxicos o alergénicos sobre organismos no blancos cuando se alimentan o ingieren el algodón es baja la ocurrencia de este riesgo es **Poco Probable**.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia

Un efecto adverso en poblaciones de organismos no blanco en el ambiente receptor podría causar un desequilibrio ecológico, así como una toxicidad en estos como consecuencia de la expresión de las proteínas presentes en el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701. Sin embargo y de acuerdo a la información entregada por el solicitante y la historia de uso seguro, se puede deducir que las proteínas expresadas en el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701, no son tóxicas para humanos, otros vertebrados y artrópodos no blanco.

El algodón GLIXTP posee tolerancia a glufosinato de amonio, glifosato, dicamba y HPPD (como isoxaflutol y protección contra el ataque de ciertos insectos lepidópteros. Esta característica facilita su manejo, particularmente cuando se practica mediante siembra directa, la cual es más amigable con el ecosistema y genera menor disturbio en el suelo. Acorde a lo anterior, las consecuencias en caso que el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 afectara poblaciones de organismos no blanco se consideran **Menores**.

Estimación del riesgo

Se considera que la estimación del riesgo que el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 afecte poblaciones de organismos no blanco es **Insignificante**.

D. POTENCIAL QUE LAS PROTEÍNAS INTRODUCIDAS EN EL EVENTO ALGODON GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 PUEDAN SER ALERGÉNICAS Y/O TÓXICAS.

Caracterización del riesgo

Las alergias alimentarias son reacciones adversas a un alimento o a un componente de un alimento, por lo demás inocuo, que causan o pueden promover diferentes tipos de reacciones inmunológicas (Sampson y Burks, 1996), como respuesta a la presencia del alimento o de la proteína.

Las alergias alimentarias representan una fracción pequeña del total de las que se presentan y generalmente involucran anticuerpos de la inmunoglobulina E (IgE). En el caso que la alergia se dé por mediación de la IgE, generalmente son reacciones de hipersensibilidad inmediata y afectan más comúnmente a los lactantes y niños, alcanzando una prevalencia en menores de 3 años hasta del 5 al 8 por ciento (Sampson, 1990).

Evento GHB811

Gen 2mepsps: La secuencia de codificación en algodón GHB811 se clonó a partir de maíz (*Zea mays*). Las evaluaciones previas de los genes epsps y sus productos enzimáticos (enzimas EPSPS) han demostrado que no comparten una secuencia de aminoácidos similar a las toxinas conocidas y es poco probable que sean alérgenos humanos (ILSI-CERA 2011). Debido al riesgo insignificante que representan las proteínas EPSPS, la EPA ha emitido exenciones permanentes de los límites de tolerancia de alimentos y piensos para CP4EPSPS (derivado de *Agrobacterium* spp.) en todos los cultivos en los Estados Unidos (US-EPA 2007). (USDA, APHIS, BRS).

Gen hppdPfw336-1Pa: Codifica la proteína HPPD W336. Las enzimas HPPD, son un grupo de proteínas relacionadas bioquímica y estructuralmente, son ubicuas en alimentos de consumo plantas y animales. La HPPD está presente en la naturaleza, se encuentra en taxones de todos los reinos: bacterias, hongos, plantas y animales. Por ejemplo, se han identificado secuencias de aminoácidos de HPPD en bacterias tales como *Streptomyces avermitiles* (Denoya et al., 1994), plantas como *Arabidopsis thaliana* (Garcia et al., 1999), y humanos (Ruetschi et al., 1993).

Es poco probable que los genes 2mepsps y hppdPfw336 y sus productos que se encuentran en la GHB811 presenten algún riesgo para los animales. Los datos presentados anteriormente indican que el GHB811 es esencialmente equivalente al algodón no transgénico según su análisis de composición.

Evento T-304-40

Gen Cry1Ab: Codifica la proteína Cry1Ab se expresa en varios cultivos genéticamente modificados que han sido aprobados desde 1995 y actualmente se comercializan. No se encontraron registros de alergenidad en humanos y mamíferos asociados con la bacteria Bt (OCDE, 2007). Además, los bioplaguicidas microbianos Bt, incluidos los que contienen la proteína Cry1Ab, no han mostrado efectos tóxicos resultados de varios estudios de toxicidad en mamíferos (Betz et al., 2000)."

Gen bar: Por su uso tan extendido en cultivos biotecnológicos, la seguridad de la proteína PAT ha sido ampliamente evaluada. Cuando la secuencia de aminoácidos de la enzima PAT se sometió a análisis comparativo de polipéptidos usando el algoritmo FASTDB de Intelligenetics, no mostró una homología significativa con otras proteínas presentes en las bases de datos, excepto con otras fosfinotricina acetiltransferasas que se originan a partir de diferentes organismos. No se observó semejanza con toxinas potenciales o con alérgenos. No se esperan efectos tóxicos o alérgicos provenientes de la proteína PAT/bar, ya que las acetiltransferasas no poseen estabilidad proteolítica o térmica y tiene una alta especificidad de sustrato (Herouet et al., 2005).

Evento GHB119

Gen Cry2Ae: Los insecticidas microbiales a base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) tienen una historia de uso seguro en la agricultura de alrededor de 50 años. Las proteínas Cry están entre los ingredientes activos de estos insecticidas y actualmente los genes que codifican estas proteínas han sido introducidos en diversos cultivos mediante técnicas de ingeniería genética. Lo anterior implica que las proteínas Cry han sido usadas y consumidas de forma segura por humanos y animales durante décadas (Betz et al., 2000; Onose et al., 2008; McClintock et al., 1995). Los niveles de proteínas Cry expresadas en los cultivos GM son muy bajos y se reducen todavía más debido al procesamiento de los alimentos. Adicionalmente, la extensa evaluación de proteínas Cry en cultivos GM no han mostrado ningún daño o efecto negativo en especies no blanco, incluyendo los humanos (Koch et al., 2015).

Gen bar: Por su uso tan extendido en cultivos biotecnológicos, la seguridad de la proteína PAT ha sido ampliamente evaluada. Cuando la secuencia de aminoácidos de la enzima PAT se sometió a análisis comparativo de polipéptidos usando el algoritmo FASTDB de Intelligenetics, no mostró una homología significativa con otras proteínas presentes en las bases de datos, excepto con otras fosfinotricina acetiltransferasas que se originan a partir de diferentes organismos. No se observó semejanza con toxinas potenciales o con alérgenos. No se esperan efectos tóxicos o alérgicos provenientes de la proteína PAT/bar, ya que las acetiltransferasas no poseen estabilidad proteolítica o térmica y tiene una alta especificidad de sustrato (Herouet et al., 2005).

Evento COT102

Codifica la toxina Vip3Aa19 de 780 aminoácidos, la cual pertenece al grupo de proteínas insecticidas vegetativas (Vip) producidas por *Bacillus thuringiensis*. Las proteínas Vip son producidas principalmente durante el crecimiento vegetativo de las bacterias y secretadas como proteínas solubles en el ambiente extracelular. Las proteínas Vip también continúan siendo producidas durante la fase estacionaria de crecimiento y esporulación. Por esto, las proteínas Vip se encuentran presentes en los distintos bioinsecticidas comerciales formulados en base a *Bacillus thuringiensis*, teniendo por lo tanto las proteínas Vip un historial de uso seguro. El mecanismo de acción de esta proteína también asegura la no toxicidad para otros organismos que no sean insectos. Esta proteína requiere unirse a un receptor específico para que actúe como toxina y éste se encuentra sólo en algunas especies de insectos lepidópteros.

Gen aph4: APH4: Un análisis bioinformático de la secuencia de aminoácidos de la proteína APH4 mostró que la secuencia de la proteína no comparte ninguna homología secuencial con toxinas conocidas en la base de datos GenBank. Además, los análisis bioinformáticos mostraron que la secuencia de aminoácidos de la proteína APH4 no mostraba ninguna homología significativa con alguna de las secuencias de aminoácidos reportadas para alérgenos (usando alérgeno como palabra clave) en Syngenta Biotechnology Incorporated (SBI) AllergenDatabase (Artim, 2005).

Igualmente, se condujo un estudio de toxicidad aguda en ratones con la proteína APH4, se concluyó que no hay evidencia de toxicidad en mamíferos asociada con la proteína APH4 a un nivel de dosificación máximo de 779 mg/kg de peso corporal (Artim, 2005). También se mostró que la proteína APH4 se digiere rápidamente en fluidos gástricos e intestinales simulados de mamíferos, una característica de la mayoría de las proteínas que se consumen de manera inocua en la dieta humana y que tienen pocas probabilidades de representar un riesgo de alergenicidad o toxicidad (Artim, 2005). Se concluyó que la APH4 se degrada rápidamente como otras proteínas en la dieta, no posee los atributos conocidos de los alérgenos proteínicos o toxinas conocidas, no es tóxica para los mamíferos y en consecuencia, no representa un riesgo para el consumo humano o animal.

Evento MON88701

Los productos de reacción de dicamba por su desmetilación por DMO son metabolitos que se encuentran naturalmente presentes en plantas: ácido 3,6-diclorosalicílico (DCSA), y formaldehído por lo tanto no se considerarían nocivos para la salud humana o animal. Sin embargo, según se indica en un informe de EFSA (4), los datos disponibles no permiten concluir si dicamba y DCSA actúan con el mismo patrón toxicológico. De acuerdo a esto, EFSA propone un límite máximo para el metabolito (0,4 mg/kg), propuesta que amerita considerar al momento de la liberación y uso de este evento.

Stenotrophomonas maltophilia. *S. maltophilia* es omnipresente en el medio ambiente y se encuentra asociada con la rizosfera de las plantas. *S. maltophilia* puede encontrarse en una variedad de alimentos y piensos, y está muy extendida en el entorno doméstico (Berg et al., 1999; Denton y Kerr, 1998). La exposición a *S. maltophilia* es incidental a su presencia en los alimentos. Se ha aislado de ensaladas "listas para comer", verduras, pescado congelado, leche y aves de corral (Qureshi et al., 2005; Ryan et al., 2009). *S. maltophilia* puede encontrarse en individuos sanos sin causar ningún daño a la salud humana (Denton et al., 1998) y las infecciones causadas por *S. maltophilia* son extremadamente poco comunes (Cunha, 2010). Se han encontrado cepas en la flora transitoria de pacientes hospitalizados como organismo comensal y, similar a las bacterias autóctonas del tracto gastrointestinal. Finalmente, no se ha informado que *S. maltophilia* sea fuente de alérgenos. La presencia ubicua de *S. maltophilia* en el medio ambiente, la presencia en individuos sanos sin causar infecciones, la presencia incidental en alimentos sin ningún informe de seguridad adverso y la falta de alergenicidad reportada establece la seguridad del organismo donante. Estos resultados tomados en conjunto conforman evidencia consistente para inferir que es altamente improbable que la proteína DMO tenga características alergénicas o tóxicas.

Probabilidad de ocurrencia

Teniendo en cuenta que el uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON8870 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal y que la posibilidad de que tenga efectos tóxicos o alergénicos cuando se alimentan o ingieren el algodón es baja, se considera que la ocurrencia de este riesgo es **Poco Probable**.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia

Un efecto adverso en poblaciones de organismos no blanco en el ambiente receptor podría causar un desequilibrio ecológico, así como una toxicidad en estos como consecuencia de la expresión de

las proteínas presentes en el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102. Sin embargo y de acuerdo a la información entregada por el solicitante y la historia de uso seguro, se puede deducir que las proteínas expresadas en el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON8870, no son tóxicas para humanos, otros vertebrados y artrópodos no blanco. Se considera que las consecuencias en caso que las proteínas expresadas en el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON8870 sean tóxicas o alergénicas son **Menores**.

Estimación del riesgo

Con los estudios presentados anteriormente se ha demostrado la inexistencia de homología con tóxicos o alérgenos conocidos, la poca o nula actividad de las proteínas en sistemas gastrointestinales simulados, así como exposición a diversas temperaturas y la ausencia de efectos tóxicos en ensayos de toxicidad aguda. A esto se suma que el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON8870 es equivalente desde el punto de vista sustancial a sus contrapartes isogénicas no genéticamente modificadas, siendo equivalentes desde el punto de vista nutricional. Por lo anterior se considera que la estimación del riesgo que el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON8870 afecte poblaciones en cuanto a efectos tóxicos o alergénicos es **Insignificante**.

E. IMPACTO EN LA NUTRICIÓN ANIMAL DEL ALGODON GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102

Caracterización del riesgo

Se realizó un estudio para determinar los niveles de expresión de las proteínas HPPD W336, 2mEPSPS, Cry1Ab, Cry2Ae, PAT/bar, Vip3Aa19, APH4 y DMO en varias matrices de plantas de GLIXTP cultivado en campo (tratado y no tratado con herbicidas específicos de las características) y eventos parentales en tres ensayos de campo en los Estados Unidos en 2019. Los niveles de expresión de las proteínas en hoja, raíz, polen, cápsula pequeña, cápsula inmadura, planta entera y semilla motosa se determinaron a través de métodos ELISA específicos para cada proteína.

Los niveles de expresión de proteínas de muestra se determinaron mediante interpolación a partir de curvas estándar de cada proteína en análisis ELISA utilizando el software SoftMax Pro™ GxP (Versión 5.4.4.). La concentración media y la desviación estándar (DE) se determinaron para cada entrada dentro de un sitio y en los 3 sitios con Microsoft Office 365 ProPlus. Los niveles de expresión de proteínas en los diversos tejidos de algodón GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 fueron similares independientemente de los tratamientos herbicidas específicos de las características. Los niveles de expresión de HPPD W336, 2mEPSPS, Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3Aa19, APH4 y DMO fueron similares en el producto apilado y en su correspondiente genotipo parental. La expresión de proteína PAT/bar en los productos apilados varió consistentemente de aproximadamente 1 a 3 veces la de las líneas parentales, ya que dos o tres copias del gen PAT/bar (una de cada evento parental, T304-40, GHB119 y MON88701) estaban presentes. La expresión de PAT/bar en el algodón MON88701 fue mínima y los niveles de expresión de proteínas en las entradas GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 (no tratados y tratados) y T304-40 x GHB119 fueron similares. El nivel de expresión PAT/bar en el algodón T304-40 fue consistentemente más alto que el algodón GHB119 en todas las matrices, excepto en el polen.

La concentración de proteína **HPPD W336** en la hoja de algodón, la raíz, pre-botón floral, la cápsula inmadura, la planta entera y la semilla motosa se encontraron similares en las entradas GLIXTP (no tratadas y tratadas) y GHB811 con niveles que oscilan entre 15,15 y 1034,12, 12,92 y 1100,65, y 15,71 a 1138,01 µg/g DW, respectivamente. Los niveles de proteína HPPD W336 en algodón GLIXTP (no tratado y tratado) y GHB811 no fueron cuantificables excepto por una sola muestra en la entrada GHB811 que estaba ligeramente por encima del LLOQ. en el polen para la entrada GHB811 fue $<0,62 \pm 0,03$ µg/g FW.

La concentración de proteína **2mEPSPS** en la hoja, la raíz, pre-botón floral, la planta entera y la semilla motosa se encontraron similares en las entradas GLIXTP (no tratadas y tratadas) y GHB811 con niveles que oscilan entre 84,16 y 2321,31, 78,65 y 2009,96, y 122,32 a 2530,74 µg/g DW. Asimismo, se encontraron niveles similares de proteína 2mEPSPS en el polen de algodón entre las tres entradas con niveles que oscilaban entre 10,34 y 43,83, 20,50 y 54,06 y 15,48 y 59,12 µg/g FW en las mismas entradas, respectivamente. Los niveles de proteína 2mEPSPS medios ($\pm$ SD) más altos en algodón GLIXTP (no tratado y tratado) y GHB811 fueron $1775,98 \pm 356,52$, $1526,81 \pm 351,38$ y $1755,20 \pm 391,57$ µg/g DW, respectivamente. Los niveles de proteína 2mEPSPS medios ($\pm$ SD) más bajos en algodón GLIXTP (no tratado y tratado) y GHB811 fueron $22,08 \pm 5,86$, $32,19 \pm 10,12$ y $26,75 \pm 12,99$ µg/g FW, respectivamente.

La concentración de proteína **Cry1Ab** en la hoja, la raíz, pre-botón, la cápsula inmadura, la planta

entera y la semilla motosa se encontraron similares en las entradas GLIXTP (no tratadas y tratadas), T304-40 y T304-40 x GHB119 con niveles que van desde 0,25 a 8,65, 0,12 a 12,40, 0,76 a 11,43 y <LLOQ a 20,21 $\mu\text{g/g DW}$, respectivamente. Asimismo, se encontraron niveles similares de proteína Cry1Ab en el polen de algodón entre las cuatro entradas con niveles que oscilan entre 0,41 y 0,67, 0,34 a 0,75, 0,50 a 0,75 y 0,33 a 1,47 $\mu\text{g/g FW}$ en las mismas entradas, respectivamente. Los niveles de proteína Cry1Ab en todas las matrices fueron similares en todas las entradas. Los niveles medios ($\pm\text{DE}$) de proteína Cry1Ab en algodón GLIXTP (no tratado y tratado), T304-40 y T304-40 x GHB119 fueron $5,92 \pm 2,23$, $7,34 \pm 2,84$, $7,48 \pm 2,46$ y $6,24 \pm 5,16$ $\mu\text{g/g DW}$, respectivamente.

La concentración de proteína **Cry2Ae** en la hoja, la raíz, pre-botón floral, la cápsula inmadura, la planta entera y la semilla motosa se encontraron similares en las entradas GLIXTP (no tratadas y tratadas), GHB119 y T304-40 x GHB119 con niveles que van desde <LLOQ to 279.39, 10.39 a 235.06, 7.85 a 335.96 y 6.94 a 455.54 $\mu\text{g/g DW}$, respectivamente. Los niveles medios ($\pm\text{DE}$) de proteína Cry2Ae en GLIXTP (no tratado y tratado), GHB119 y algodón T304-40 x GHB119 fueron $147,81 \pm 53,33$, $146,40 \pm 29,94$, $210,65 \pm 69,73$ y $205,57 \pm 98,79$ $\mu\text{g/g DW}$. Los niveles medios ($\pm\text{DE}$) de proteína Cry2Ae en algodón GLIXTP (no tratado y tratado), GHB119 y T304-40 x GHB119 fueron $0,50 \pm 0,41$, $0,55 \pm 0,65$, $0,97 \pm 1,04$ y $1,77 \pm 3,31$ $\mu\text{g/gFW}$, respectivamente..

La concentración de proteína **PAT/bar** GLIXTP (no tratada y tratada), GHB119, T304-40, T304-40 x GHB119 y MON 88701 hoja, raíz, pre-botón floral, cápsula inmadura, planta entera y semilla motosa osciló entre 161,15 y 1505,30, 116,51 a 1481,92, 60,03 a 519,88, 101,98 a 1125,14, 168,27 a 1587,74 y <LLOQ a 11,26 $\mu\text{g/g DW}$, respectivamente. En la mayoría de los casos, el nivel de proteína de PAT/bar en todas las matrices fue más alto en GLIXTP (no tratado y tratado) y T304-40 x GHB119 y más bajo en T304-40, GHB119 y MON 88701. El mayor nivel de proteína de PAT/barra presente en los eventos apilados se atribuye a la presencia de múltiples (2 o 3) copias del gen bar, una de cada uno de los eventos principales T304-40, GHB119 y MON 88701. El nivel de proteína PAT/bar en algodón T304-40 fue consistentemente más alto que el algodón GHB119 en todas las matrices excepto en el polen. Tenga en cuenta que el nivel de proteína de las muestras cuadradas antes de la vela en el algodón MON 88701 fue <LLOQ. El valor medio presentado aquí ($<10,45 \pm 0,36$ $\mu\text{g/g DW}$) se basó en el cálculo utilizando el valor LLOQ.

La concentración de proteína **Vip3Aa19** en la hoja, la raíz, pre-botón floral, la cápsula inmadura, la planta entera y la semilla motosa se encontraron similares en las entradas GLIXTP (no tratadas y tratadas) y COT102 con niveles que oscilan entre 1,65 y 168,56, 1,72 y 216,77, y 2,16 a 171,45 $\mu\text{g/g DW}$. Asimismo, se encontraron niveles similares de proteína Vip3Aa19 en el polen de algodón entre las tres entradas con niveles que oscilan entre 0,13 y 0,46, 0,24 y 0,70 y 0,14 y 0,28 $\mu\text{g/g FW}$ en las mismas entradas, respectivamente. Los niveles medios ($\pm\text{SD}$) de proteína Vip3Aa19 en algodón GLIXTP (no tratado y tratado) y COT102 fueron $100,46 \pm 31,84$, $136,87 \pm 47,52$ y $134,62 \pm 33,79$ $\mu\text{g/g DW}$, respectivamente. Los niveles medios ($\pm\text{DE}$) de proteína Vip3Aa19 en algodón GLIXTP (no tratado y tratado) y COT102 fueron $0,28 \pm 0,10$, $0,34 \pm 0,13$ y $0,20 \pm 0,04$ $\mu\text{g/gFW}$, respectivamente.

La concentración de proteína **APH4** en la hoja, la raíz y el pre-botón floral se encontraron similares en GLIXTP (no tratado y tratado) y COT102 con niveles que van desde <LLOQ a 3.61, <LLOQ a 3.22 y <LLOQ a 4.20 $\mu\text{g/g DW}$, respectivamente. APH4 no fue cuantificable en cápsulas inmaduras, plantas enteras y semillas motosas. Se encontraron niveles similares de proteína APH4 en el polen de algodón entre las tres entradas con niveles que oscilaban entre 3,04 y 12,25, 6,37 y 13,28 y 4,91 y 12,01 $\mu\text{g/g FW}$, respectivamente. Los niveles medios ($\pm\text{SD}$) de proteína APH4 en algodón GLIXTP (no tratado y tratado) y COT102 fueron $8,51 \pm 2,72$, $9,31 \pm 1,93$ y $8,87 \pm 2,51$ $\mu\text{g/g FW}$,

respectivamente. los niveles más bajos de proteína APH4 (por debajo del límite de detección (<LOD)) para todas las entradas.

Los niveles de proteína **DMO** en la hoja de algodón, la raíz, pre-botón floral, la cápsula inmadura, la planta entera y la semilla desmotada se encontraron similares en las entradas GLIXTP (no tratadas y tratadas) y MON 88701 con niveles que van desde 18,41 a 800,95, 15,72 a 756,21 y 17,65 a 1024,24 µg/g DW, respectivamente. Asimismo, se encontraron niveles similares de proteína DMO en el polen de algodón entre las tres entradas con niveles que van desde <LOD a 1,41, <LLOQ a 3,62 y <LOD a 1,17 µg/g FW en las mismas entradas, respectivamente. Los niveles medios (±SD) de proteína DMO más altos en algodón GLIXTP (no tratado y tratado) y MON 88701 fueron 531,23± 117,32, 488,92± 135,17 y 811,70± 148,55 µg/g DW, respectivamente. Los niveles medios (±SD) de proteína DMO en algodón GLIXTP (no tratado y tratado) y MON 88701 fueron <0,30± 0,43, <0,44± 1,01 y <0,17± 0,32 µg/g FW, respectivamente.

Los niveles de proteína de HPPD W336, 2mEPSPS, Cry1Ab, Cry2Ae, PAT/bar, Vip3Aa19, APH4 y DMO se determinaron utilizando métodos ELISA específicos para proteínas para analizar muestras de hojas, raíces, polen, pre-botón floral, cápsulas inmaduras, plantas enteras y Matrices de semillas motosas recolectadas en múltiples etapas de desarrollo de algodón GLIXTP. Además, se determinaron los niveles de proteína de HPPD W336 y 2mEPSPS presentes en muestras de plantas de algodón GHB811, Vip3Aa19 y APH4 presentes en muestras de plantas de algodón COT102, y DMO y PAT/bar presentes en muestras de plantas de algodón MON 88701. Finalmente, los niveles de proteína de Cry1Ab, Cry2Ae y PAT/bar se determinaron en muestras de plantas de algodón T304-40 x GHB119, los niveles de proteínas de Cry1Ab y PAT/bar se determinaron en muestras de plantas de algodón T304-40 y los niveles de proteínas de Cry2Ae y PAT /bar se determinaron en muestras de plantas de algodón GHB119.

Tabla 7. Descripción de las entradas de algodón.

Entrada	Material	Descripción
A	Coker 312	Contraparte No-GM
B	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701	algodón no tratado con herbicidas de características específicas
C	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701	algodón tratado con herbicidas específicos de rasgos
F	ST457	Variedad de referencia No-GM
G	ST457	Variedad de referencia No-GM
H	DP491	Variedad de referencia No-GM
I	FM958	Variedad de referencia No-GM
J	FM966	Variedad de referencia No-GM
K	FM989	Variedad de referencia No-GM
L	FM993	Variedad de referencia No-GM

Proximales y fibra en la semilla motosa

No se observó una diferencia estadísticamente significativa entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratada o tratada con herbicidas de características específicas (Entrada de banda Entrada C) para humedad.

No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratada con herbicidas específicos de la característica (Entrada B). Sin embargo, se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 tratada con herbicidas de características específicas (Entrada C) para este analito. No se observó una diferencia estadísticamente significativa entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 tratados con herbicidas de características específicas (Entrada C) para fibra de ácido. Sin embargo, se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratado con herbicidas específicos del rasgo (Entrada B) para este analito. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119x COT102 x MON 88701 no tratado y tratado con herbicidas de características específicas (entrada de banda de entrada C) para carbohidratos, grasa cruda, proteína cruda, fibra detergente neutra y fibra dietética total. Sin embargo, el GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON Los valores medios de 88701, para todos los proximales y fibra, estuvieron dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Por lo tanto, las diferencias estadísticamente significativas no se consideran biológicamente relevantes.

Tabla 8. Comparación de proximales y fibra en semilla de algodón GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 con pelusa con su contraparte no OMGa

	Contraparte no OMG (Entrada A)	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 No Tratado (Entrada B)	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 Treated (Entrada C)	Intervalo de variedades de referencia no OMG (Entrada F-L) ^a	Intervalo de tolerancia variedades de referencia no OMG (Entrada F-L) ^b	Prueba t de comparación A vs B ^c	Prueba t de comparación A vs C ^d
Analito	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	Valor p	Valor p
Humedad (%FW)	11.1 ± 1.5	10.9 ± 0.8	10.9 ± 1.0	8.36 - 12.6	7.9 - 13.5	0.415	0.571
Ceniza (%DW)	3.88 ± 0.36	3.83 ± 0.36	3.70 ± 0.34	2.99 - 4.55	2.90 - 4.86	0.343	0.002
Carbohidratos (%DW)	53.9 ± 2.6	57.1 ± 2.8	57.5 ± 3.2	49.6 - 64.7	48.7 - 62.7	<.001	<.001
Grasa cruda (%DW)	19.7 ± 2.4	19.0 ± 2.3	18.8 ± 2.2	11.5 - 22.6	12.6 - 26.0	0.030	0.003
Proteína cruda (%DW)	22.5 ± 2.7	20.1 ± 2.5	20.0 ± 3.2	16 - 29.3	13.4 - 28.8	<.001	<.001
Fibra detergente ácida (%DW)	40.7 ± 2.6	42.6 ± 2.7	41.7 ± 3.3	35 - 44.9	33.3 - 45.3	0.022	0.197
Fibra detergente neutra (%DW)	45.6 ± 2.3	48.3 ± 2.5	48.4 ± 3.8	41.6 - 50.4	39.4 - 52.5	<.001	<.001
Fibra total en la dieta (%DW)	50.6 ± 2.6	54.2 ± 4.2	52.6 ± 3.8	46.6 - 61.6	44.4 - 60.1	<.001	0.019

a Las muestras de composición se derivaron de ocho ensayos de campo realizados en EE.UU. en 2019.

b Intervalo de resultados de siete variedades de referencia (entradas F,G,H,I,J,K y L).

c Intervalo de tolerancia de 99%. Rango de variedades de referencia basados en intervalos de tolerancia especificados para contener al 99% de la población con 95% de confianza.

d Valor p de prueba t. comparación con pares con la contraparte no OMG (Entrada A).

Aminoácidos en la semilla motosa

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la contraparte no GM (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratada y tratada con herbicidas específicos de rasgos (Entrada Banda Entrada C) para todos los aminoácidos (alanina,

arginina, ácido aspártico, cistina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, tirosina, valina y triptófano). Sin embargo, el GHB811 x T304-40 x Los valores medios de GHB119 x COT102 x MON 88701, para todos los aminoácidos, estuvieron dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Por lo tanto, las diferencias estadísticamente significativas no se consideran biológicamente relevantes.

Tabla 9. Comparación de aminoácidos en semilla de algodón GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 con pelusa con su contraparte no OMGa (% DW)

	Contraparte no OMG (Entrada A)	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 No Tratado (Entrada B)	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 Tratado (Entrada C)	Intervalo de variedades de referencia no OMG (Entrada F-L) ^a	Intervalo de tolerancia variedades de referencia no OMG (Entrada F-L) ^b	Prueba t de comparación A vs B ^c	Prueba t de comparación A vs C ^d
Analito	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	Valor p	Valor p
Alamina	0.888 ± 0.104	0.864 ± 0.094	0.797 ± 0.095	0.701 -1.06	0.613 -1.069	0.002	<.001
Arginina	2.53 ± 0.42	2.35 ± 0.41	2.14 ± 0.36	1.57 -3.37	1.24 -3.34	<.001	<.001
Ácido Aspártico	2.04 ± 0.30	1.94 ± 0.29	1.79 ± 0.26	1.4 -2.58	1.14 -2.63	<.001	<.001
Cistina	0.383 ± 0.048	0.370 ± 0.048	0.339 ± 0.046	0.287 -0.514	0.233 -0.493	<.001	<.001
Ácido glutámico	4.14 ± 0.62	3.89 ± 0.58	3.57 ± 0.52	2.77 -5.25	2.33 -5.26	<.001	<.001
Glicina	0.919 ± 0.109	0.889 ± 0.104	0.822 ± 0.097	0.689 -1.11	0.607 -1.116	<.001	<.001
Histidina	0.591 ± 0.084	0.558 ± 0.077	0.514 ± 0.069	0.392 -0.743	0.352 -0.750	<.001	<.001
Isoleucina	0.712 ± 0.083	0.688 ± 0.080	0.635 ± 0.077	0.548 -0.864	0.475 -0.862	0.002	<.001
Leucina	1.286 ± 0.151	1.24 ± 0.15	1.14 ± 0.14	0.944 -1.54	0.86 -1.55	0.001	<.001
Lisina	0.955 ± 0.119	0.928 ± 0.098	0.855 ± 0.105	0.651 -1.25	0.609 -1.210	0.010	<.001
Metionina	0.347 ± 0.036	0.339 ± 0.034	0.313 ± 0.034	0.275 -0.41	0.242 -0.411	0.005	<.001
Fenilalanina	1.181 ± 0.168	1.111 ± 0.164	1.015 ± 0.142	0.762 -1.45	0.686 -1.468	<.001	<.001
Prolina	0.832 ± 0.109	0.749 ± 0.092	0.713 ± 0.114	0.601 -1.03	0.530 -1.023	<.001	<.001
Serina	0.959 ± 0.125	0.865 ± 0.110	0.821 ± 0.127	0.708 -1.18	0.613 -1.172	0.001	<.001
Treonina	0.724 ± 0.081	0.663 ± 0.071	0.634 ± 0.091	0.562 -0.864	0.503 -0.867	0.003	<.001
Tirosina	0.701 ± 0.084	0.630 ± 0.073	0.602 ± 0.096	0.519 -0.862	0.451 -0.866	<.001	<.001
Valina	0.974 ± 0.123	0.886 ± 0.104	0.842 ± 0.132	0.7 -1.18	0.641 -1.182	0.002	<.001
Triptófano	0.312 ± 0.034	0.277 ± 0.036	0.284 ± 0.039	0.222 -0.396	0.192 -0.394	<.001	0.011

^a Las muestras de composición se derivaron de ocho ensayos de campo realizados en EE.UU. en 2019.

^b Intervalo de resultados de siete variedades de referencia (entradas F,G,H,I,J,K y L).

^c Intervalo de tolerancia de 99%. Rango de variedades de referencia basados en intervalos de tolerancia especificados para contener al 99% de la población con 95% de confianza.

^d Valor p de prueba t. comparación con pares con la contraparte no OMG (Entrada A).

Ácidos grasos en la semilla motosa

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la contraparte no GM (Entrada

A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratado o tratado con herbicidas específicos de rasgos (Entrada Banda Entrada C) para C16:0 palmítico, C17:0 heptadecanoico, C18:0 esteárico, C18:1 oleico, C18:3 linolénico, C20:0 araquídico, C22:0 behénico y C24:0 ácido lignocérico. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la contraparte no GM (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratada y tratada con herbicidas específicos de características (Entrada Banda Entrada C) para C14:0 mirístico, palmitoleico C16:1 y linoleico C18:2. Sin embargo, los valores medios de GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701, para todos los ácidos grasos, estuvieron dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Por lo tanto, las diferencias estadísticamente significativas no se consideran biológicamente relevantes.

Tabla 10. Comparación de ácidos grasos en semilla de algodón GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 con pelusa con su contraparte no OMGa (% de ácidos grasos totales)

	Contraparte no OMG (Entrada A)	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 No Tratado (Entrada B)	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 Tratado (Entrada C)	Intervalo de variedades de referencia no OMG (Entrada F-L) ^a	Intervalo de tolerancia variedades de referencia no OMG (Entrada F-L) ^b	Prueba t de comparación A vs B ^c	Prueba t de comparación A vs C ^d
Analito	Media $\pm$ DE	Media $\pm$ DE	Media $\pm$ DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	Valor p	Valor p
C14:0 Mirístico	0.825 $\pm$ 0.126	0.784 $\pm$ 0.121	0.782 $\pm$ 0.116	0.621 - 1.07	0.453 - 1.156	<.001	<.001
C16:0 Palmítico	25.7 $\pm$ 1.3	25.7 $\pm$ 1.2	25.7 $\pm$ 1.2	23 - 27.7	21.4 - 28.9	0.449	0.607
C16:1 Palmitoleico	0.556 $\pm$ 0.043	0.592 $\pm$ 0.041	0.591 $\pm$ 0.040	0.46 - 0.656	0.391 - 0.660	<.001	<.001
C17:0 Heptadecanoico	0.0776 $\pm$ 0.0116	0.0768 $\pm$ 0.0130	0.0770 $\pm$ 0.0130	0.0399 - 0.1	0.0456 - 0.1150	0.777	0.824
C18:0 Esteárico	2.46 $\pm$ 0.20	2.47 $\pm$ 0.20	2.46 $\pm$ 0.21	2.1 - 2.99	1.94 - 3.23	0.805	0.835
C18:1 Oleico	14.6 $\pm$ 1.0	15.3 $\pm$ 1.0	15.2 $\pm$ 0.9	13.3 - 22.3	9.4 - 22.5	0.052	0.079
C18:2 Linoleico	54.3 $\pm$ 2.0	53.5 $\pm$ 2.0	53.6 $\pm$ 2.0	44 - 57.7	43.7 - 62.9	0.021	0.043
C18:3 Linolenico	0.151 $\pm$ 0.020	0.152 $\pm$ 0.025	0.153 $\pm$ 0.025	0.109 - 0.297	0.058 - 0.235	0.860	0.693
C20:0 Araquídico	0.296 $\pm$ 0.024	0.298 $\pm$ 0.027	0.297 $\pm$ 0.026	0.243 - 0.399	0.203 - 0.407	0.583	0.783
C20:1 Eicosenoico	<LOQ - 0.06	<LOQ	<LOQ	<LOQ - 0.0694	NA	NA	NA
C22:0 Behénico	0.136 $\pm$ 0.014	0.135 $\pm$ 0.014	0.137 $\pm$ 0.014	0.109 - 0.192	0.077 - 0.200	0.706	0.667
C24:0 Lignocérico	0.0937 $\pm$ 0.0140	0.0919 $\pm$ 0.0161	0.0898 $\pm$ 0.0150	0.0455 - 0.122	0.0472 - 0.1314	0.523	0.169

^a Las muestras de composición se derivaron de ocho ensayos de campo realizados en EE.UU. en 2019.

^b Intervalo de resultados de siete variedades de referencia (entradas F,G,H,I,J,K y L).

^c Intervalo de tolerancia de 99%. Rango de variedades de referencia basados en intervalos de tolerancia especificados para contener al 99% de la población con 95% de confianza.

^d Valor p de prueba t. comparación con pares con la contraparte no OMG (Entrada A).

NA= No aplica porque más de 1/3 de los valores son <LOQ. Se reportan el mínimo y el máximo en lugar de la media y la desviación estándar.

Minerales y alfa-tocoferol en semilla de algodón con pelusa

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la contraparte no GM (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratados o tratados con herbicidas específicos de características (Entrada de banda Entrada C) para calcio, cobre y potasio. No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la contraparte no modificada

genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratados con herbicidas de rasgos específicos (Entrada B) para alfa tocoferol. Sin embargo, se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40x GHB119 x COT102 x MON 88701 tratados con herbicidas específicos de características (Entrada C) para este analito. Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre la contraparte no GM (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratados y tratados con herbicidas específicos de rasgos (Entrada Banda Entrada C) para hierro, magnesio, manganeso, fósforo, y zinc. Sin embargo, los valores medios de GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701, para todos los minerales y alfa tocoferol, estuvieron dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Por lo tanto, las diferencias estadísticamente significativas no se consideran biológicamente relevantes.

Tabla 11. Comparación de minerales y alfa-tocoferol en semilla de algodón GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 con pelusa con su contraparte no OMGa (mg/kg DW)

	Contraparte no OMG (Entrada A)	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 No Tratado (Entrada B)	GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 Tratado (Entrada C)	Intervalo de variedades de referencia no OMG (Entrada F-L) ^a	Intervalo de tolerancia variedades de referencia no OMG (Entrada F-L) ^b	Prueba t de comparación A vs B ^c	Prueba t de comparación A vs C ^d
Analito	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	Valor p	Valor p
Calcio	1392 ± 388	1311 ± 380	1308 ± 301	1030 - 2390	564 - 2347	0.111	0.096
Cobre	8.01 ± 2.11	7.55 ± 2.22	7.67 ± 2.11	2.61 - 14.4	0.64 - 15.12	0.133	0.261
Hierro	44.9 ± 6.4	39.7 ± 5.5	39.8 ± 8.7	30.5 - 71	19.6 - 69.5	<.001	<.001
Magnesio	3881 ± 369	3694 ± 486	3667 ± 301	2930 - 4570	2698 - 4934	0.003	<.001
Manganeso	14.9 ± 1.5	13.3 ± 1.1	13.1 ± 1.2	12.4 - 19.3	11.7 - 20.5	<.001	<.001
Fosforo	6428 ± 1195	5861 ± 1315	5664 ± 1019	3990 - 8530	3087 - 9805	<.001	<.001
Potasio	12472 ± 989	12203 ± 1075	12281 ± 662	11000 - 14600	10312 - 15217	0.064	0.183
Sodio	<LOQ - 115	<LOQ	<LOQ - 138	<LOQ	NA	NA	NA
Zinc	36.3 ± 4.8	34.3 ± 4.3	33.8 ± 3.9	24.3 - 53.2	21.1 - 51.9	0.021	0.005
Alfa-tocoferol (Vitamina E)	132 ± 26	130 ± 26	124 ± 31	54.4 - 162	48 - 193	0.471	0.015

^a Las muestras de composición se derivaron de ocho ensayos de campo realizados en EE.UU. en 2019.

^b Intervalo de resultados de siete variedades de referencia (entradas F,G,H,I,J,K y L).

^c Intervalo de tolerancia de 99%. Rango de variedades de referencia basados en intervalos de tolerancia especificados para contener al 99% de la población con 95% de confianza.

^d Valor p de prueba t. comparación con pares con la contraparte no OMG (Entrada A).

NA= No aplica porque más de 1/3 de los valores son <LOQ. Se reportan el mínimo y el máximo en lugar de la media y la desviación estándar.

Anti-nutrientes en semilla de algodón con pelusa

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratada y tratada con herbicidas de características específicas (Entrada Banda Entrada C) para gossipol libre, gossipol total, ácido dihidrostercúlico, ácido estercúlico y ácido malválico. Sin embargo, los valores medios de GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701, para todos los antinutrientes, estuvieron dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Por lo tanto, las diferencias estadísticamente significativas no se consideran

biólogicamente relevantes.

En resumen, de los 70 analitos de la composición, 51 tenían niveles suficientes por encima del LOQ para el análisis estadístico. De los 51 analitos que se analizaron estadísticamente, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para 39 analitos; 36 fueron estadísticamente diferentes entre la contraparte no modificada genéticamente (EntryA) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratado y tratado con rasgo -herbicidas específicos (Entrada de banda Entrada C), uno fue significativamente diferente desde el punto de vista estadístico solo entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 no tratados con herbicidas de características específicas (Entrada B), y dos fueron estadísticamente diferentes solo entre la contraparte no modificada genéticamente (Entrada A) y GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 tratada con herbicidas de rasgos específicos (Entrada C). Sin embargo, la magnitud de las diferencias fue pequeña. Además, los valores medios de GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701, no tratados y tratados con herbicidas de rasgos específicos, para todos los analitos estuvieron dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Por lo tanto, las diferencias estadísticamente significativas no se consideran biológicamente relevantes.

Tabla 12 Comparación de antinutrientes en semilla de algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT10 x MON88701 con pelusa con su contraparte no OGMa (mg/kg PS)

Parámetros	No – GM Contraparte (Entrada A) Promedio $\pm$ SD	GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 no tratado (Entrada B) Promedio $\pm$ SD	GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON88701 tratado (Entrada C) Promedio $\pm$ SD	No-GM Referencia Variedades Rango (Entradas F-L) b (Min-Max)	Intervalo de tolerancia No-GM Referencia Variedades (Entradas F-L) c Bajo – Superior	Comparación t-test A vs B d p-value	Comparación t-test A vs C d p-value
Libre de Gosipol (% PS)	0.652 $\pm$ 0.139	0.529 $\pm$ 0.121	0.521 $\pm$ 0.092	0.292 - 1.12	0 - 1.356	<.001	<.001
Gosipol Total (% PS)	0.740 $\pm$ 0.157	0.586 $\pm$ 0.133	0.570 $\pm$ 0.121	0.355 - 1.32	0 - 1.542	<.001	<.001
Ácidos grasos ciclopropenoides							
ácido dihidroestercúlico (% ácidos grasos totales)	0.1818 $\pm$ 0.0180	0.1971 $\pm$ 0.0185	0.2001 $\pm$ 0.0191	0.167 - 0.34	0.1562 - 0.3542	0.025	0.008
Ácido estercúlico (% ácidos grasos totales)	0.1954 $\pm$ 0.0218	0.2071 $\pm$ 0.0186	0.2118 $\pm$ 0.0241	0.15 - 0.307	0.1317 - 0.3379	0.022	0.002
Ácido malválico (% ácidos grasos totales)	0.4091 $\pm$ 0.0561	0.4497 $\pm$ 0.0585	0.4617 $\pm$ 0.0651	0.299 - 0.616	0.2203 - 0.6696	<.001	<.001

a Las muestras de composición se derivaron de ocho ensayos de campo realizados en los EE. UU. en 2017.

b Rango de resultados para siete variedades de referencia (entradas F,G,H,I, J, K y L)

c 99% intervalo de tolerancia. Rango de variedades de referencia basado en intervalos de tolerancia especificados para contener el 99 % de la población con un 95 % de confianza.

d Test p-valor: comparación por pares con la contraparte no GM (entrada A)

Conclusiones

La evaluación estadística de los niveles de nutrientes y antinutrientes de GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 semilla de algodón motosa (no tratada y tratada con herbicidas específicos de características) en comparación con la contraparte no GM, Coker 312, reveló diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para 39 de los 51 analitos examinados. Sin embargo, los valores medios de GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 de los 39 analitos estuvieron dentro del rango (mín-máx) de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia.

Por lo tanto, las diferencias estadísticamente significativas no se consideran biológicamente

relevantes porque los valores se encuentran dentro del rango de variabilidad natural. Según la evaluación comparativa, los niveles de nutrientes y antinutrientes en las semillas de algodón GHB811 x T304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 son comparables con las variedades de referencia y contraparte no modificadas genéticamente.

Probabilidad de ocurrencia

En relación a los análisis comparativos se puede concluir que los niveles de nutrientes y antinutrientes de semillas de algodón desmotadas de GLIXTP son comparables con su contraparte no GM y las variedades de referencia.

De acuerdo a los estudios realizados por el solicitante, es **Poco Probable** que algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 genere impactos negativos en la nutrición animal, ya que no se han observado cambios relevantes en su composición nutricional.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia

En caso de que el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 mostrará algún cambio en su composición nutricional, que genere algún impacto negativo en la nutrición animal, se podrían presentar cambios en el crecimiento animal, bajo rendimiento y desnutrición que podrían afectar la salud animal a largo plazo, si no se realizara una acción correctiva de suplemento nutricional. Se considera que las consecuencias son **Menores**.

Estimación del riesgo

Se concluye que el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional y que la probabilidad de que ocurra un riesgo nutricional por la expresión o la presencia de las proteínas transgénicas se considera **Insignificante**.

A continuación, se detallan en forma resumida los resultados del análisis de riesgo:

ALGODÓN EVENTO GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701

¿Existe familiaridad basada en introducciones con historial de uso seguro?

SI, el evento GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701, según la información suministrada por el usuario está aprobado en Australia, Brasil, Canadá, Corea (MSFD), Costa Rica, Estados Unidos y Japón. Y ha sido solicitado para autorización de uso a los organismos reguladores en Corea (RDA) y Singapur quedando en espera el concepto respectivo de cada País.

¿Es la planta modificada genéticamente un producto de métodos genéticos clásicos?

SI, las plantas de algodón provenientes del evento GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 presentan tolerancia al ataque de un rango de insectos del orden Lepidóptera y presenta tolerancia a los herbicidas con los i.a. glufosinato de amonio, glifosato, dicamba y HPPD (como el ixosaflutol). El método utilizado es cruzamiento convencional de eventos individuales.

¿La planta modificada genéticamente, es fenotípicamente equivalente a un producto de un método clásico?

SI, los resultados de la evaluación de nutrientes demostraron que la composición nutricional del grano derivado del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 es comparable a la del algodón convencional.

¿Puede haber cruces con otras especies o con variedades cultivadas del género *Gossypium* presentes?

No, la aplicación del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 es para uso como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, por lo tanto, no se prevé que haya cruces con variedades cultivadas del género *Gossypium* o especies relacionadas.

III. EFECTOS POTENCIALES DEL Algodón EVENTO GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 EN EL AMBIENTE.

¿Hay cambios en la progenie obtenida por cruzamiento convencional?

No, el uso del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, por lo tanto, no se prevé que haya cambios en la progenie obtenida por cruzamiento convencional.

¿Cuál es el modo de acción de las proteínas?

Las proteínas Cry se solubilizan y forman cristales en el estómago alcalino (pH 9-10) de las larvas de los insectos, una vez son ingeridos. Estos cristales se fijan en unos receptores muy específicos que se encuentran en el intestino medio del insecto susceptible. Cuando el cristal se fija en el intestino medio, le ocasiona una serie de poros que interfieren con el transporte de iones a través de la pared del intestino, pudiendo ocasionar la destrucción del epitelio de este y según la dosis consumida, la parálisis y/o muerte del insecto. Hay que destacar que los receptores específicos no

existen en mamíferos, por lo que no hay ninguna razón para pensar que las proteínas Cry, puedan causar algún problema en la salud humana.

Las proteínas Vip3Aa comparten algunos pasos en el modo de acción con las δ -endotoxinas del Cry1Ab, sin embargo, utilizan receptores celulares distintos y forman canales de iones diferentes comparadas con el Cry1Ab. De forma general, el modo de acción de estas proteínas consiste en romper o hacer poros en el intestino del insecto, lo cual se inicia con la activación de la proteína, en el intestino medio de los insectos. Una vez activada, la toxina se liga a receptores específicos presentes únicamente en las células del epitelio del intestino medio del insecto susceptible, se inserta en la membrana y ocasiona poros que causan parálisis del intestino, seguida por la lisis y muerte de las células epiteliales (Lee *et al.*, 2003).

El gen pat, el cual le confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio, fue aislado a partir del microorganismo *Streptomyces viridochromogenes*, el cual tiene una amplia distribución en la naturaleza, especialmente en el suelo. El gen pat codifica la enzima PAT que metaboliza el componente fosfotricina a un derivado acetilado inactivo; este gen bacteriano ha sido expresado en plantas bajo el control de un promotor de plantas específico (Thompson *et al.*, 1987; De Block *et al.*, 1987). El glufosinato de amonio actúa como inhibiendo la enzima vegetal glutamina sintasas, la enzima vegetal glutamina sintasas, la enzima vegetal que detoxifica el amonio incorporándolo al aminoácido glutamina. La inhibición de esta enzima conduce a la acumulación de amonio en los tejidos vegetales, que causa la muerte de los mismos. La enzima PAT cataliza la acetilación del i.a. glufosinato de amonio, convirtiéndolo en un compuesto inactivo, detoxificando los tejidos vegetales del mismo.

¿Tienen las proteínas mecanismos de acción igual o diferente?

El algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 posee las proteínas 2 Mepsps, HPPD w336 Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3A(a), PAT y DMO que le confieren resistencia al ataque de ciertos insectos del orden lepidoptera y tolerancia a la aplicación del herbicida i.a. glufosinato de amonio, glifosato, dicamba y HPPD (como isoxaflutol). El mecanismo de acción de estas proteínas es diferente, la primera actúa sobre la ruta metabólica de biosíntesis de compuestos aromáticos presentes en microorganismos y en plantas. Y la enzima PAT cataliza la acetilación del i.a. glufosinato de amonio, convirtiéndolo en un compuesto inactivo, detoxificando los tejidos vegetales del mismo.

¿En qué parte de la planta se acumulan las proteínas transgénicas?

Las proteínas transgénicas del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701, se expresan en todos los tejidos de la planta.

¿Expresa el híbrido los niveles esperados resistencia a insectos y tolerancia a herbicidas?

Si, las plantas de algodón provenientes del evento GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 presentan resistencia al ataque de ciertos insectos lepidópteros y tolerancia a la aplicación del herbicida glufosinato de amonio, glifosato, dicamba y HPPD (como isoxaflutol).

¿Se esperan cambios en el consumo humano o animal?

No. Tal como muestran los datos suministrados por los solicitantes y la literatura general, la calidad nutricional del algodón GHB811 x T304-40x GHB119 x COT102 x MON 88701 no cambia, por lo tanto, no implica que haya un cambio en las cantidades y calidades del consumo.

IV. RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta:

- 1) Que el algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 tiene muy pocas posibilidades de convertirse en supermaleza o en maleza persistente, dado que el uso es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.
- 2) Que algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 y los alimentos para consumo animal derivados de él son tan seguros y nutritivos como las variedades comerciales.
- 3) Que la calidad nutricional del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 es equivalente a su contraparte no transgénica.
- 4) Que la inocuidad de las proteínas expresadas ya ha sido evaluada en diferentes ensayos, sin que se haya evidenciado algún potencial tóxico o alergénico.
- 5) Que las proteínas transgénicas expresadas del algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701 tienen muy pocas posibilidades de ser alergénicas y de causar efectos adversos en la salud humana y animal.
- 6) Que los eventos individuales del evento GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701, se encuentran autorizados en el país para siembras, consumo humano y animal.

En virtud de lo anterior,

Se propone al CTNBio recomendar al ICA autorizar a la empresa BASF Química Colombiana S.A., el uso del algodón **GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 x MON 88701** como alimento o como materia prima para la elaboración de alimentos de consumo animal.

Bibliografía

Asociación de Biotecnología vegetal Agrícola (AGROBIO), 2021 Estadísticas de áreas sembradas de algodón GM en Colombia

Betz F., B.G. Hammond, R.L. Fuchs, 2000. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests Regul. Toxicol. Pharmacol., 32, pp. 156-173

Confederación Colombiana de Algodón (Conalgodon), 2021. Estadísticas de áreas sembradas de algodón en Colombia.

De Block, M., Botterman, J., Vandewiele, M., Dockx, J., Thoe, D., Gossele, V., Movva, N., Thompson, C. Van Montegue, M., Leemans, J., 1987. Engineering herbicide resistant plants by expression of a detoxifying enzyme. EMBO J 6 (9) pp. 2513-2518.

Garcia I, Rodgers M, Pepin R, Hsieh TF, Matringe M., 1999 Characterization and subcellular compartmentation of recombinant 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase from *Arabidopsis* in transgenic tobacco. Plant Physiol, (4):1507-1516

Herouet, C., D. J. Esdaile, B. A. Mallyon, E. Debruyne, A. Schulz, T. Currier, K. Hendrickx, R.-J. van der Klis, and D. Rouan. 2005. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate ammonium herbicide in transgenic plants. Regul. Pharmacol. Toxicol. 41:134-149

ILSI-CERA. 2011. A review of the environmental safety of the CP4EPSPS protein, Environ. Biosafety Res. 10, pp. 5-25. Retrieved from http://www.cera-gmc.org/files/cera/uploads/ebr_cp4epsps.pdf

Koch M., Ward J., S.L. Levine, Baum,J., Vicini,J. and B.G. Hammond, 2015
The food and environmental safety of Bt crops Front. Plant Sci., 6 (2015), p. 283

Lee L., Saxena D., and G Stotzky, 2003 Activity of free and clay-bound insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* against the mosquito *Culex pipiens* Appl Environ Microb, 69 (2003), pp. 4111-4115

Luna, S.V., Figueroa, J.M., Baltazar, B.M., Gomez, R.L., Townsend, R. and Schoper J. 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. Crop Sci. 41:1551-1557.

McClintock, J.T., Schaffer, C.R. and Sjoblad, R.D., 1995. A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides. Pestic. Sci., 45: 95-105. <https://doi.org/10.1002/ps.2780450202>

OECD, 2007. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis*-derived insect control protein: 109

Onose, J-i., Imai, T., Hasumura, M., Ueda, M., Ozeki, Y. and Hirose, M., 2008. Evaluation of subchronic toxicity of dietary administrated Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis* var kurustaki HD-1 in F344 male rats with chemically induced gastrointestinal impairment. Food and Chemical

Toxicology 46:2184-2189.

Rüetschi U, Dellsen A, Sahlin P, Stenman G, Rymo L, Lindstedt S. Human 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, primary structure and chromosomal localization of the gene. *Eur J Biochem.* 1993;213:1081–1089.

Sampson, H.A. 1990. Food allergy. *Curr. Opinion Immunol.* 2: 542-547.

Sampson, H. A. and Burks A. 1996 Mechanisms of food allergy. *Annu. Rev. Nutr.* 16,161-177

Thompson C.J., Movva Rao N., Tizard R., Crameri R., Davies J. E., Lauwereys M., Botterman, J. 1987. Characterization of the herbicide resistance gene bar from *Streptomyces hygroscopicus*. *EMBO J.*6(9). 2519-2523

US-EPA. 2007.40 CFR§174.523 – *CP4 Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate (CP4 EPSP) Synthase in all Plants; Exemption from the Requirement of a Tolerance*. U.S. Environmental Protection Agency. Retrieved from <http://www.gpo.gov/fdsys/granule/CFR-2010-Title40-vol123/CFR-2010-title40-vol23-sec174-523/content-detail.html>

USDA, 2011. Determination of plant Pest Risk for Insect- Resistant and Glufosinate Ammonium – Tolerant (TwinLink TM) Cotton, *Gossypium hirsutum*, events T304-40 x GHB119.

USDA-APHIS-BRS, 2017 Draft Environmental Assessment OECD unique identifier BCS GH811-4.