EVALUACIÓN DE RIESGO DEL ALGODÓN GHB811 PARA CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

Nombre del solicitante BASF QUÍMICA COLOMBIANA S.A.	***Nombre del contacto*** Tiffany Grace Acuña Benavente
Dirección del solicitante Calle 99 No. 69C - 32, Bogotá.	***Dirección del solicitante*** Calle 99 No. 69C - 32, Bogotá.
Nombre del producto (Identificador de OECD y otros nombres) **Identificador OECD:** BCS-GH811-4	
Objetivo de la aplicación. Aprobación uso del Algodón GHB811 (BCS-GH811-4) como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
Aprobaciones y usos en otros países: El evento GHB811 tiene como origen Estados Unidos, y cuenta con autorizaciones para diversos usos en los siguientes países: Australia, Canadá y Nueva Zelanda para consumo humano y Estados Unidos para consumo humano, animal y siembra.	
Algún otro uso aprobado en el país: El evento GHB811 aún no tiene aprobación de uso en el país para ninguno de los usos como consumo humano y/o siembra.	

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores:
Familia: *Malvaceae*
Género: *Gossypium*
Especie: *Gossypium hirsutum*
Nombre común: Algodón
Líneas de mejoramiento: Coker312 y otras líneas élite de BASF

2. *Descripción de la modificación genética:*

El evento de transformación GHB811 en *Gossypium hirsutum* fue producido por transformación mediada por *Agrobacterium*, usando el vector pTSIH09, el cual contiene los casetes de expresión de los genes hppdPfW336-1Pa y 2mepsps.

Se germinaron semillas de algodón de la variedad Coker312 en medio Murashige & Skoog (MS). Se disectaron fragmentos de hipocotilo, que fueron transformados con el vector pTSIH09 utilizando el método de *Agrobacterium tumefaciens* para transformación de hipocotilo de algodón.

El gen hppdPf W336 codifica para la proteína HPPD W336. La secuencia codificante hppdPf W336 fue desarrollada introduciendo una única mutación puntual al gen hppd WT derivado de *Pseudomonas fluorescens*. La expresión de la proteína HPPD W336 confiere tolerancia a inhibidores de HPPD tales como isoxaflutol.

El gen 5-enol-pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mepsps) codifica para la

proteína 2mEPSPS. La secuencia codificante 2mepsps fue desarrollada introduciendo dos mutaciones puntuales al gen epsps WT (*Zea mays* L). La expresión de la proteína confiere tolerancia al herbicida glifosato.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Tipo de modificación genética

Inserción	*Deleción*	*Sustitución de bases*	*Fusión celular*	*Otro:*
X				

2. Método usado para transformar la planta:

El algodón GHB811 fue obtenido por transformación con *Agrobacterium tumefaciens* usando el vector pTSIH09, el cual contiene los casetes de expresión de los genes hppdPfW336-1Pa y 2mepsps. Dichos genes son idénticos a los presentes en el evento de soya FG72, proviniendo de los mismos organismos donantes. El gen hppdPfW336-1Pa proviene de Pseudomonas (*Pseudomonas fluorescens*), mientras que el gen 2mepsps proviene de maíz (*Zea mays* L.)

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

Para la transformación del evento GHB811 se utilizó el plásmido pTSIH09. La estructura del vector contiene los elementos genéticos expresados en las siguientes tablas:

Casete de expresión del gen *hppdPfW336-1Pa*.

Elemento Genético	Origen	Tamaño	Posición en el vector	Descripción	Función
ThistonAt (SAH)	*Rabidopsis thaliana*	667	83 - 749	Secuencia que incluye la 3 UTR del gen de la histona H4 de *Arabidopsis thaliana.*	Región terminadora.
hppdPfW336-1Pa (SAH)	*Pseudomonas fluorescens*	1077	766 - 1842	Secuencia codificante del gen 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa de *Pseudomonas fluorescens* 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)	*Zea mays and Helianthus annuus*	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 *Zea mays y Helianthus annuus* (Lebrun et al.,1996), adaptado para el uso de codones de algodón.	Péptido de tránsito
Pcsvmv (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

Casete de expresión del gen *2mepsps*.

Elemento Genético	Origen	Tamaño	Posición en el vector	Descripción	Función
Ph4a748 (SH)	*Arabidopsis thaliana*	917	2834 - 3750	Secuencia que incluye la región promotora del gen de la histona H4 de *Arabidopsis thaliana*.	Promotor
intron1 h3At (SH)	*Arabidopsis thaliana*	466	3790 - 4255	Variante del primer intrón del gen II de la histona H3.III de *A. thaliana.*	Intron
TPotpC (SH)	*Zea mays and Helianthus annuus*	372	4269 - 4640	Secuencia codificante del péptido de tránsito optimizado, que contiene la secuencia del gen de la subunidad pequeña de la RuBisCO de *Zea mays y Helianthus annuus*.	Péptido de tránsito
2mepsps (SH)	*Zea mays*	1338	4641 - 5978	Confiere tolerancia al herbicida glifosato	Codifica para proteína doble mutante 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase de *Zea mays*.
ThistonAt (SH)	*Arabidopsis thaliana*	667	5999 - 6665	Secuencia 3'UTR de la histona H4 de A. thaliana.	Terminador

4. Diferencias del evento y Cultivar convencional:

En principio, el evento de algodón GHB811 (BCS-GH811-4) es sustancialmente equivalente al algodón convencional.

En términos generales, este evento de algodón (BCS-GH811-4), 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 individual y los testigos convencionales, excepto por las características de tolerancia a herbicidas inhibidores de HPPD y a herbicidas con base en glifosato.

La gran diferencia se basa en la expresión de las proteínas transgénicas que fueron introducidas, las cuales son: HPPD W336 y 2mEPSPS.

5. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto

Con el fin de determinar el número de copias y para verificar que el ADN insertado del evento de transformación GHB811 corresponde al ADN de plásmido, se realizó un análisis de transferencia de Southern (Southern Blot).

El ADN genómico del evento de transformación GHB811 fue digerido con 10 diferentes enzimas de restricción e hibridado con 8 diferentes sondas patrón, cada una conteniendo

un componente del casete de transformación, y la sonda de ADN-T completa.
Los datos obtenidos muestran que una copia del ADN-T se integró en el algodón con el evento GH8B11 y que el ADN trasferido en la planta corresponde a la configuración de ADN como se diseñó en el plásmido pTSIH09.

I. JUSTIFICACIÓN DE LA INTRODUCCIÓN DEL ALGODÓN GHB811 COMO ALIMENTO PARA CONSUMO ANIMAL

El algodón ha sido cultivado por cientos de años con el objetivo de obtener su 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 otros pocos países.

En la actualidad, los principales productos obtenidos con fines alimentarios a partir de la semilla del algodón son: aceite, torta y harina, cáscaras, línters (fibras cortas adheridas a la semilla), semillas sin deslintar y semillas deslintadas.

Los rendimientos promedio obtenidos para estos productos en años recientes por la industria del algodón arrojan las siguientes cifras (expresados por Tn de semilla procesada): 150 kg de aceite, 415 kg de harina, 240 kg de cáscaras y 75 kg de línters, con pérdidas por manufactura de aproximadamente 30 kg. Por supuesto estos valores varían en relación a la campaña, región, molino, la semilla, el tipo de proceso utilizado y las condiciones del mercado.

El aceite obtenido a partir de la semilla de algodón fue hasta la segunda guerra mundial el principal aceite vegetal utilizado en Estados Unidos, desplazado actualmente por el de soya y maíz (NCPA, 1999). Este aceite es el más valioso de los productos obtenidos de la semilla de algodón (40 a 50% del valor total obtenible) y su uso principal es la alimentación humana. Su importancia, al igual que otras grasas y aceites, radica en la presencia de vitaminas o sus precursores y en su elevado aporte en calorías. El aceite de semilla de algodón es utilizado principalmente como aceite de cocina, aderezos, condimento para ensaladas y en la preparación de galletitas y chips (NCCA, 1999).

La torta de semilla de algodón es normalmente comercializada como un producto con 41% de proteínas, pero se encuentra disponible también con niveles de proteína de 35%, 38% y 44%, conteniendo más de 1% de fósforo y 70-80% de nutrientes totales digeribles. La torta de semilla de algodón es una fuente excelente de proteína para una gran variedad de especies animales. La torta de semilla de algodón puede ser utilizada sola en muchas dietas o en combinación con otras fuentes de proteínas vegetales y animales para completar una ración balanceada. El tipo de proceso de extracción de aceite del cual deriva la torta (mecánica o extracción por solvente expansor), determina ampliamente las características de una torta en particular. Las tortas extraídas por solvente tienen normalmente un contenido mínimo de grasa de 0,5% mientras que las provenientes de extracciones mecánicas tienen usualmente un mínimo de 2,0%. Los niveles máximos de fibras para las tortas proteicas 35, 38 y 44% son 17, 14 y 13% respectivamente (NCPA, 2000b).

La mayor parte del daño al algodón es causada por larvas lepidópteras e insectos homópteros. la mayoría de las pérdidas pueden atribuirse a siete especies, dentro de las cuales se incluyen tres gusanos del capullo estrechamente relacionados: *Heliothis armigera* (Hübner), gusano del capullo americano; *Heliothis virescens* (F.), gusano de la yema de tabaco; *Helicoverpa zea* (Boddie), gusano del capullo de algodón; *Pectinophora gossypiella* (Saunders), gusano rosado del capullo; *Spodoptera littoralis* (Boisduval), gusano de la hoja de algodón egipcio; *Anthonomus grandis* (Boheman),

picudo (o grillo de la cápsula), no encontrado en ninguna región productora de algodón fuera de América; *Lygus vosseleri*, chinche manchada.

Las enfermedades más comunes de las plántulas de algodón son: Marchitez o Fusariosis (causado por el complejo Pythium - Fusarium – Rhizoctonia), Mal del tallo o “Damping off” (causado por Colletotrichum), Roya bacteriana (*Xanthomonas gossypii*), y Podredura negra de la raíz (causado por *Thilaviopsis basicola*); también puede aparecer en el estado de plántula Roya de clima húmedo (causado por Ascochyta).

Particularmente en Colombia el cultivo del algodón en el año 2018 en lo referente a área sembrada fue de aproximadamente 14.000 has (Conalgodón 2019), con 12.103 Has de algodón GM (AgroBio, 2019 https://www.agrobio.org/actualidad/transgenicos-en-colombia/)

Las zonas de producción están fundamentalmente 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 algodoneras en el año, lo que permite garantizar continuidad en la oferta.

En este sentido es muy importante para la industria de alimentación animal del país, contar con la autorización de eventos de algodón modificados genéticamente, como es el caso del algodón evento GHB811, para la producción de alimentos que puedan suplir el déficit de proteína en las dietas de los animales, además, de que en el entorno internacional este evento ya se encuentra aprobado y en el país en un futuro cercano, se podría aprobar la siembra de este evento.

La autorización para consumo animal en el país del algodón evento GHB811 (BCS-GH811-4), les permitirá a los productores importar y/o utilizar este algodón para la producción de alimentos o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.

II. EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS POTENCIALES

La evaluación de los riesgos potenciales se hará teniendo en cuenta la siguiente Matriz[1]:

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

A. POTENCIAL QUE EL ALGODÓN EVENTO GHB811 (BCS-GH811-4) SE CONVIERTA EN MALEZA O INVADA AMBIENTES NATURALES

Caracterización del riesgo

Una maleza se puede definir como una planta que crece donde no lo desea el ser humano (FAO, 2002) o que crecen en lugares donde no son deseadas y que por lo general tienen efectos económicos, ambientales y/o sociales detectables y negativos (Richardson *et al*., 2000). De acuerdo a la primera definición, cualquier planta en algún momento puede considerarse como maleza. Sin embargo, en este caso, para que la planta se considere maleza deberá causar algún daño en el cultivo o en el ecosistema.

Entonces, desde el punto de vista agronómico, una "maleza" es un conjunto de plantas que se han adaptado a unas condiciones agroecológicas específicas y crecen de forma agresiva, junto a uno o varios cultivos, afectando su capacidad de producción y desarrollo normal por la competencia de agua, luz, nutrientes y espacio físico, y/o por la producción de sustancias nocivas para dichos cultivos. Desde este punto de vista, se puede deducir que el concepto de maleza es netamente antropológico.

Según FAO (2004), el daño causado por las malezas se da por diferentes problemas debido a:
- Su fuerte competencia con los cultivos por los nutrientes, el agua y la luz.
- La liberación de sustancias a través de sus raíces y sus hojas que resultan ser tóxicas a los cultivos, de tal manera que pueda competir con las plantas del cultivo.
- Creación de un hábitat favorable para la proliferación de otras plagas (artrópodos, ácaros, patógenos y otros) al servir de hospederas de éstas.
- Interfiriendo el proceso normal de cosecha y contaminando la producción obtenida.

[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.

Teniendo en cuenta lo anterior y que el permiso solicitado es solo para usar el algodón Evento GHB811 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, el riesgo de convertirse en maleza o de que invada ambientes naturales es prácticamente ninguno. Sin embargo, se debe considerar que el algodón Evento GHB811, que se importe como grano, podría ser liberado accidentalmente al ambiente. A pesar de ello, las plantas que probablemente germinen de estas liberaciones, no tendrían mayor posibilidad de supervivencia sin la intervención de la mano del hombre, ya que, en condiciones naturales, el algodón no es persistente ni invasivo, lo cual disminuye la posibilidad que se establezca.

El algodón no es considerado una maleza. No se considera una maleza nociva y no está incluido en la lista de malezas nocivas de los EE. UU. (http://www.aphis.usda.gov/ppq/weeds/nwpolicy2001.html), ni está listado como maleza en otras partes del mundo (Holm et al., 1979). Para poder obtener descendencia, el cultivo necesita manejos agrícolas (Munro, 1987). No existen en Colombia malezas taxonómicamente relacionadas con el cultivo.

No se espera que la introducción de la tolerancia a los herbicidas con ingrediente activo glufosinato de amonio en el cultivo de algodón pueda causar que el mismo se convierta en una maleza. El mejoramiento tradicional de algodón ya ha provisto nuevas variedades de algodón con resistencia a enfermedades, insectos y herbicidas, tolerancia a varias condiciones ambientales (calor, frío, sequía, etc.) y características de mejoras fenotípicas, como germinación más rápida y rápido crecimiento de los plántulas y en ninguno de estos casos se manifestó evidencia alguna de potencial para convertirse en una maleza.

Basados en la información del solicitante, las nuevas características del algodón evento GHB811, no han alterado las características biológicas que ha adquirido a través de su domesticación.

Probabilidad de ocurrencia

De acuerdo a la información revisada, las características de reproducción, subsistencia, establecimiento y dispersión del algodón GHB811, no ha cambiado comparándola con su contraparte convencional. Por esta razón, es ***Poco Probable*** que el algodón GHB811 sobreviva y persista en el ambiente como maleza, por la acumulación de diferentes características transgénicas presentes.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia.

En el caso de que plantas de algodón evento GHB811 germinen en ambientes naturales a partir de granos liberados accidentalmente no tendrían muchas opciones de sobrevivir. El vigor de las plantas germinadas espontáneamente es tan bajo que no logran establecerse. Si por cualquier circunstancia lograran establecerse, la producción sería consumida por humanos o por otros animales sin que el algodón consumido resulte en un deterioro para la salud. Por lo anterior se considera que las consecuencias para este riesgo son ***Menores***.

Estimación del riesgo

Se puede concluir que algodón evento GHB811 no exhibe tendencias de convertirse en maleza o que invada ambientes naturales o agrícolas. Teniendo en cuenta la probabilidad de ocurrencia y las consecuencias, este riesgo se considera ***Insignificante***.

B. POTENCIAL DEL ALGODÓN EVENTO GHB811 DE TRANSFERIR GENES A VARIEDADES CRIOLLAS O PLANTAS SEXUALMENTE COMPATIBLES

Caracterización del riesgo

El algodón es considerado un cultivo auto-polinizado. Su estructura floral provee un contacto directo de la antera con el estigma. Debido a que la caída del polen ocurre cuando el estigma está receptivo, la auto polinización ocurre fácilmente durante unas pocas horas (desde las 8 a.m. hasta las 12 a.m.) en el único día de antesis, seguida luego por la autofecundación (Llewellyn y Fitt, 1996).

Para que la polinización cruzada sea efectiva, el polen extraño debe competir exitosamente con los granos de polen producidos por la propia flor de algodón estándar (aproximadamente 35,000) (Vaissière, 1990). Por otra parte, debido a su gran tamaño, peso y naturaleza pegajosa el polen de algodón no es transferido por el viento (Niles y Feaster, 1984). Puede considerarse entonces al algodón como un cultivo con autopolinización facultativa y polinización cruzada solo oportunista cuando se encuentran presentes insectos polinizadores.

Estudios de "outcrossing" realizados con algodón Upland sugieren que el movimiento de polen disminuye muy rápido a medida que aumenta la distancia a la fila donde se encuentra el polen marcado, y la transferencia de polen más allá de 12 metros es muy pequeña (Vaissière, 1990). Más aún, en un ensayo realizado por Meredith y Bridge (1973) en Stoneville, MS no se detectó "outcrossing" incluso entre plantas adyacentes.

El criterio de compatibilidad sexual limita en gran medida el potencial para el flujo de genes desde Gossypium cultivado hacia otras especies. Una hibridación muy amplia entre una especie *Gossypium* y otro género es rara y solo ha sido reportada para okra (*gombo-Abelmoschus esculentus*) (Vaissière, 1990).

Aún entre especies de algodón que están cercanamente relacionadas, las mismas mantienen su identidad cuando se las cultiva juntas, mientras que los híbridos vigorosos pueden darse en la primera generación, la generación tardía de híbridos desaparece de la mezcla (Munro, 1987).

Probabilidad de ocurrencia

La transferencia de genes se da vía sexual, a través de un flujo de genes. El flujo de genes ocurre cuando el polen o semillas de áreas de cultivo se mueven hacia otra área (Chesser, 1991; Rong et al., 2005, Snow, 2002) y sólo es significativo si entre las plantas hay: compatibilidad sexual, coincidencia en floración, condiciones ambientales favorables y viabilidad del híbrido.

Como ya se mencionó, en caso de que haya un suceso de escape, las plantas generadas sin la intervención del hombre crecerán con bajo vigor y con polen poco viable. Así mismo, las características introducidas no confieren ningún rasgo que modifique las características iníciales del polen, es decir, no afecta su viabilidad, capacidad de dispersión etc. Bajo estas circunstancias, la probabilidad de ocurrencia de flujo de genes desde plantas de algodón evento GHB811 hacia variedades criollas o plantas sexualmente compatibles, es ***Poco Probable***.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia

La transferencia de genes de algodón evento GHB811 a otros algodones, inicialmente no causaría consecuencias graves por que las características introducidas no tendrían efectos nocivos en la supervivencia de estos algodones, ni en el ambiente en general. De esta manera, las consecuencias serían casi idénticas a si se cruzaran con un algodón convencional. Por esta razón, las consecuencias de este riesgo se consideran ***Menores***.

Estimación del riesgo

Se puede concluir que la probabilidad de que se transfieran genes desde el algodón evento GHB811 hacia variedades criollas y/o plantas sexualmente compatibles es ***Insignificante***. Para prevenir cualquier riesgo de transferencia de genes se deben tener en cuenta consideraciones de bioseguridad y los planes de manejo de la biotecnología.

C. POTENCIAL DEL ALGODÓN EVENTO GHB811 PARA AFECTAR A ORGANISMOS NO BLANCO.

Caracterización del riesgo

El algodón ha sido cultivado extensivamente y tiene un historial de uso inocuo en la alimentación animal. Aunque no se considera que el algodón sea dañino ni patógeno para animales o para seres humanos, la planta produce pequeñas cantidades de sustancias antinutricionales, tales como el gosipol, los ácidos grasos ciclopropenoides y el ácido fítico (OECD 2004). A excepción del ácido fítico, todas las sustancias antinutricionales se neutralizan durante la fase de procesado. El gosipol libre se combina con la lisina, y de esa forma no puede ser asimilado por los animales. Los ácidos grasos ciclopropenoides se desactivan o se eliminan del aceite mediante un proceso de hidrogenación o durante la desodorización a 230-235° C (Gunstone et al., 1994).

El algodón no es considerado un cultivo alérgeno o tóxico para la producción de piensos para animales, y como se ha indicado anteriormente, la seguridad de las nuevas proteínas expresadas para los humanos, los animales y los organismos no blanco, ha sido extensivamente estudiada y evaluada y ha llevado a la conclusión que no afecta la seguridad para humanos y animales si es consumida como alimentos y piensos.

No hay ninguna razón para pensar que el algodón derivado del evento de transformación pueda tener un efecto adverso si es utilizado en piensos. Adicionalmente como se ha expresado con anterioridad, se demuestra la equivalencia sustancial del evento GHB811 con su contraparte no transgénica.

Es conocida la interacción del algodón con otros organismos del ambiente, incluyendo cierto número de artrópodos beneficiosos y otros nocivos, hongos patógenos y malezas. Su historia de cultivo y uso ya sea como alimento o fibra, es extensa. El conocimiento generado de este cultivo incluye la evidencia de que produce algunos tóxicos naturales tales como el gosipol y ácidos ciclopropenoides pero en cualquier caso siempre ha sido considerado un cultivo seguro y no perjudicial para los organismos de su entorno agroecológico o para sus habituales consumidores.

La secuencia codificante de 2mepsps fue desarrollada introduciendo dos mutaciones puntuales en el gen silvestre epsps clonado de maíz (*Zea mays*). El único elemento del maíz que es transferido al genoma del algodón es el gen *epsps* que codifica para la proteína homónima. La proteína expresada (EPSPS) ha formado siempre parte de este alimento y no forma parte del grupo de moléculas con potenciales efectos tóxicos o alergénicos.

El maíz (organismo donante del gen *2mepsps*) posee una extensa historia de uso seguro como alimento humano y animal y se cultiva en casi todas las áreas del mundo bajo una amplia gama de condiciones climáticas (Hallauer *et. al*., 1988).

La secuencia codificante hppdPf W336 fue desarrollada introduciendo una única mutación puntual al gen hppd WT derivado de *Pseudomonas fluorescens. P. fluorescens* es ubicuo en la naturaleza, incluyendo el suelo, agua y alimentos y posee usos ventajosos en agricultura, salud humana y bioremediación. La Agencia Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA) ha aprobado varios productos que contienen *P. fluorescens* como ingrediente activo y ha establecido una exención de tolerancia como residuo en hongos. Es no patogénica, no alergénica y no tóxica para la salud humana y de animales.

Probabilidad de ocurrencia

La probabilidad que un efecto adverso ocurra después de la exposición de las proteínas expresadas en el algodón GHB811 es ***poco probable***. Las interacciones ecológicas con organismos no blancos son comparables con aquellas observadas en los algodones convencionales.

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 evento GHB811. 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 evento GHB811, no son tóxicas para humanos, otros vertebrados y artrópodos no blanco. En este orden de idea, se considera que las consecuencias en caso de ocurrencia de que el algodón evento GHB811afecte poblaciones de organismos no blanco se consideran ***Intermedias***.

Estimación del riesgo

Se considera que la estimación del riesgo que el algodón evento GHB811 afecte poblaciones de organismos no blanco es ***Bajo***.

D. POTENCIAL QUE LAS PROTEÍNAS INTRODUCIDAS EN EL EVENTO ALGODÓN EVENTO GHB811 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 5-8 por ciento (Sampson, 1990).

Para la medición del potencial alergénico de todo material transgénico, se evalúan algunas características que se presentan frecuentemente en proteínas alergénicas a través del método del árbol de decisiones (Ladics and Selgrade, 2009; Metcalfe *et al*., 1996), que en general incluye:

- La alergenicidad de la fuente de la proteína. Si la proteína proviene un organismo no alergénico, lo más probable es que la proteína tampoco lo sea.
- La proporción de la proteína en el contenido total de proteínas. Una de las características más destacas de las proteínas alergénicas conocidas, es que tienen una alta proporción en el total de proteínas del tejido o del organismo evaluado.
- Similitud estructural con alérgenos conocidos, basados en la secuencia de aminoácidos. Se ha encontrado una alta relación entre las estructuras de las proteínas y la función que desempeñan.
- Estabilidad de la proteína en ensayos de digestión. Un parámetro clave que contribuye a la capacidad alergénica sistemática de ciertas proteínas presentes en los alimentos parece ser la estabilidad a las condiciones pépticas y acidas del sistema digestivo (Thomas *et al*., 2009; Kimber *et al*., 1999; Metcalfe *et al*., 1996; Astwood *et al*., 1996; Astwood and Fuchs, 1996). Sin embargo, la evidencia de la velocidad de la digestibilidad de las proteínas no necesariamente indica que la proteína es alergénica.

El Comité sobre Etiquetado de los Alimentos de la Comisión del Codex Alimentarius, sacó la lista de los alimentos más comunes que presentan proteínas con características alergénicas, entre ellos se encuentran el maní, la leche, los huevos, el pescado, los

crustáceos, la soya, el trigo, cereales que contienen gluten y las nueces de algunos árboles.

El algodón es un cultivo ampliamente difundido y posee una historia de uso seguro. Si bien no es considerado dañino ni patogénico para humanos es importante considerar que produce en condiciones naturales dos tipos de moléculas con potencial de toxicidad: el gosipol y los ácidos grasos ciclopropenoides (CPFA, cyclopropenoid fatty acids).

El gosipol es una sustancia terpenoide encontrada naturalmente en muchas especies de *Gossypium* incluyendo al algodón y se encuentra localizada en glándulas a lo largo de toda la planta, incluyendo la semilla (Abou-Donia, 1989). Esta sustancia constituye para la planta una fuente importante de resistencia a herbívoros e insectos. Los niveles de gosipol encontrados en alimentos humanos y animales fabricados a partir de semilla de algodón deben ser minimizados ya que pueden causar problemas toxicológicos como disminución del apetito, pérdida de peso corporal y disnea (Berardi y Goldblatt, 1980).

Los ácidos grasos ciclopropenoides (0.1 - 1.3% del aceite de semilla de algodón), estercúlico (C-19) y ácido malválico (C-18), son ácidos grasos únicos comunes en el algodón. Los niveles de ácidos grasos ciclopropenoides deben ser también minimizados debido a sus efectos indeseables, los cuales dan como resultado alimentos inseguros (Cherry y Leffler, 1984; Phelps *et. al*., 1965).

Finalmente, deben considerarse los efectos adversos potenciales sobre la salud de humanos y animales del ácido fítico, a saber: propiedades anti-calcificantes raquitogénicas, disminución en la ganancia de peso y disminución en la absorción de minerales (Maga, 1982; Bruce y Callow, 1934). El ácido fítico también tiene un efecto negativo sobre la bio-disponibilidad de proteínas y la actividad enzimática al interferir con los grupos polares laterales de proteínas, causando por lo tanto la formación de proteínas nutricionales complejas o cambios en la conformación molecular de enzimas (Fretzdorff, 1992).

Se realizó un estudio bioinformático en el locus de secuencia transgénica del evento GHB811. El locus transgénico que contenia el ADN insertado más las secuencias flanqueantes 5’ y 3’ fue usada como la secuencia de búsqueda en el programa de búsqueda GetORF para identificar todos los ORFs que se crucen con una unión o se superpongan en el ADN insertado, entre dos codones de parada de traducción, con un tamaño mínimo de codón de 3 aminoácidos. Esta búsqueda identificó 549 ORFs.

En el siguiente paso, las secuencias de los aminoácidos traducidos de los ORFs con un tamaño mínimo de 30 aminoácidos fueron usados como secuencias de consulta en búsquedas de homología con alérgenos y toxinas conocidos. Después de la eliminación de duplicados, se representaron 126 secuencias únicas.

Se usaron dos enfoques in silico para evaluar la identidad potencial de la secuencia de aminoácidos con alérgenos conocidos contenidos en la base de datos pública de alérgenos COMPARE (www.comparedatabase.org):

Se realizó una búsqueda de 8 meros para identificar cualquier secuencia corta de 8 aminoácidos o más larga que compartieran el 100% de identidad con una proteína alergénica. Esta búsqueda fue realizada utilizando SeqMatchAll desde la suite EMBOSS, que comparó cada secuencia de ORF con todos los alérgenos conocidos presentes en la base de datos de alérgenos.

Se llevó a cabo una búsqueda de identidad global utilizando el algoritmo FASTA, que comparó cada secuencia de consulta completa con todas las secuencias de proteínas presentes en la base de datos de alérgenos. La matriz de puntuación fue BLOSUM50. Se utilizó un umbral de valor E de 1. Los criterios que indicaban la posible identidad relevante para un alérgeno eran ≥35% de identidad en al menos 80 aminoácidos para secuencias de ≥80 aminoácidos, o ≥35% recalculado en una ventana hipotética de 80 aminoácidos para secuencias de <80 aminoácidos.

Adicionalmente, cada secuencia de consulta se evaluó con respecto a la identidad potencial con toxinas conocidas. Una búsqueda total de identidad se llevó a cabo mediante el uso de algoritmo FASTA con todas las secuencias de proteínas presentes en la Base de datos no redundante de NCBI, utilizando la matriz de puntuación BLOSUM50. Un umbral de valor E de 0.1 fue utilizado para preseleccionar las proteínas más idénticas. La relevancia biológica de los partidos fue posteriormente analizada. Las coincidencias biológicamente relevantes proporcionan información sobre la familiaridad y las posibles propiedades tóxicas del potencial polipéptido.

La búsqueda de 8 meros no mostró una identidad del 100% con las proteínas alergénicas conocidas. La búsqueda general no mostró identidad biológicamente relevante entre las secuencias de consulta y cualquier proteína alergénica conocida.

Además, no se encontraron identidades biológicamente relevantes con ninguna proteína tóxica de la base de datos no redundante de NCBI. En conclusión, no se encontraron hallazgos alergénicos ni toxicológicos in silico asociados con los potenciales ORF polipéptidicos.

Se realizaron estudios para evaluar la digestibilidad en jugos gástricos e intestinales simulados e las proteínas 2mEPSPS y HPPD W336

La proteína HPPD W336 (producida en *Escherichia coli*) fue testeada para su estabilidad en fluido gástrico simulado (en inglés simulated gastric fluid - SGF) con pepsina a un pH de 1.2 por periodos de incubación de 0.5 a 60 minutos. El protocolo estaba en concordancia con el protocolo de ILSI (Thomas et al., 2004). La solución de la proteína 2mEPSPS fue incubada en el SGF (una solución de pepsina a un pH de 1.2) a aproximadamente 37°C y se tomaron muestras para su análisis en los puntos de tiempo de 0, 0.5, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. Al finalizar el proceso se tuvo como conclusión que la proteína HPPD W336 fue degradada de forma muy rápida en el SIG dentro de los 30 segundos de incubación, en presencia de pepsina, a un pH de 1.2.

La proteína HPPD W336 (producida en *Escherichia coli*) fue testeada para ver su estabilidad en fluido intestinal simulado (en inglés simulated intestinal fluid - SIF) con pancreatina a un pH de 7.5, con periodos de incubación de 0.5 a 60 minutos. El protocolo estaba en concordancia con el protocolo de ILSI (Thomas et al., 2004) usando

fluido gástrico simulado. Este protocolo fue adaptado para usar Fluido intestinal simulado.

La proteína HPPD W336 fue degradada de forma muy rápida en el Fluido intestinal simulado, en menos de 30 segundos de incubación, en la presencia de pancreatina a un pH de 7.5.

La proteína 2mEPSPS (producida en *Escherichia coli*) fue testeada para su estabilidad en fluido gástrico simulado (en inglés simulated gastric fluid - SGF) con pepsina a un pH de 1.2 por periodos de incubación de 0.5 a 60 minutos. El protocolo estaba en concordancia con el protocolo de ILSI (Thomas et al., 2004). La solución de la proteína 2mEPSPS fue incubada en el SGF (una solución de pepsina a un pH de 1.2) a aproximadamente 37°C y se tomaron muestras para su análisis en los puntos de tiempo de 0, 0.5, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. Al finalizar el proceso se tuvo como conclusión que la proteína 2mEPSPS fue degradada de forma muy rápida en el SIG dentro de los 30 segundos de incubación, en presencia de pepsina, a un pH de 1.2.

La proteína 2mEPSPS fue testeada para ver su estabilidad en fluido intestinal simulado (en inglés simulated intestinal fluid - SIF) con pancreatina a un pH de 7.5, con periodos de incubación de 0.5 a 60 minutos. El protocolo estaba en concordancia con el protocolo de ILSI (Thomas et al., 2004) usando fluido gástrico simulado. Este protocolo fue adaptado para usar Fluido intestinal simulado.

La proteína 2mEPSPS fue degradada de forma muy rápida en el Fluido intestinal simulado, en menos de 30 segundos de incubación, en la presencia de pancreatina a un pH de 7.5.

Muy pocas proteínas son tóxicas al ser ingeridas (DeCarrily et al., 2008). Sin embargo, para determinar la toxicidad de las proteínas en forma directa la mejor estrategia es utilizar un estudio agudo dado que algunas proteínas han sido reportadas como tóxicas a través estos mecanismos (Jones y King, 1990; Sjoblad et al., 1992). Por lo tanto, si una proteína demuestra que no hay toxicidad aguda por vía oral en la prueba de dosis alta usando una especie de prueba de mamíferos de laboratorio estándar, es poco probable que sea tóxico para los humanos y otros mamíferos, y no representaría ningún peligro bajo un escenario de exposición realista.

Con el objetivo de estudiar los efectos de toxicidad aguda las proteínas HPPD W336 y 2mEPSPS se realizaron ensayos en animales de experimentación. En conclusión, el tratamiento con la proteína HPPD W336 y el tratamiento con la proteína 2mEPSPS a 2000 mg/kg de peso corporal por vía oral no produjo ningún signo de toxicidad sistémica en los ratones macho y hembra de la cepa C57BL/6J. Los resultados obtenidos demuestran que ninguna de ellas posee efectos tóxicos para los animales.

El algodón GHB811 es equivalente desde el punto de vista sustancial a sus contrapartes isogénicas no genéticamente modificadas y los estudios realizados y presentados con anterioridad para otros eventos simples y apilados, así como los mencionados en los puntos arriba que mostraron que son equivalentes desde el punto de vista nutricional.

Para comprobar lo indicado en este punto, se realizó el estudio de alimentación en pollos de engorde, para comparar el valor nutricional de las dietas que contenían harina de semilla de algodón (CSM por sus siglas en inglés Cottonseed meal) con el evento GHB811 y su correspondiente contraparte, dándoselas como alimento a pollos de engorde (*Gallus gallus* domesticus, variedad Ross 708) por un periodo de 6 semanas.

Después de 42 días de exposición diaria a la dieta que contenía CSM de GHB811, no se observaron efectos de salud relacionados con el tratamiento sobre la supervivencia, el consumo de alimento, la tasa de conversión alimenticia, pesos del cuerpo vivo pesos, ganancia de peso total, peso de cadáver refrigerado o peso de piernas, muslos, alas y pechugas en los pollos de engorde Ross 708, cuando se compararon con pollos de engorde expuestos a una dieta que no contenía CSM de las contrapartes no-GM.

En conclusión, los pollos de engorde que consumieron dietas que contenían 10% de CSM proveniente de algodón GHB811 demostraron características de salud y crecimiento comparables a los pollos que consumieron dietas con CSM de contrapartes no-GM. Por lo tanto, las dietas de pollo que contienen CSM proveniente de GHB811 son tan seguras y nutritivas como las CSM que contenían su contraparte no-GM.

Demostrada la ausencia de efectos tóxicos en ensayos de toxicidad aguda y la inexistencia de homología con tóxicos o alérgenos conocidos no se consideró necesario la realización de ensayos para determinar un valor de ingesta diaria aceptable y su comparación con la ingesta habitual para humanos en dietas normales

Probabilidad de Ocurrencia
De acuerdo a los estudios realizados, es **Poco Probable** que las proteínas HPPD W336 y 2mEPSPS expresadas en el algodón GHB811, tengan algún efecto tóxico o alergénico.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia
En caso de que las proteínas presentes en el evento de algodón GHB811 tengan alguna actividad alergénica podría causar trastornos en la salud humana y/o de los animales que podrían afectar su desarrollo normal y solo en casos severos, la muerte. En este sentido la consecuencia se califica como ***Intermedia***

Estimación del riesgo
Se puede concluir que el algodón GHB811 posee un riesgo ***Bajo*** en cuanto a toxicidad y alergenicidad con respecto a su contraparte convencional.

E. IMPACTO EN LA NUTRICIÓN ANIMAL DEL ALGODÓN GHB811

Caracterización del riesgo

Análisis Composicional del Grano algodón GHB811

Para evaluar las características nutricionales del algodón GHB811 se realizó un análisis composicional de sus principales nutrientes y anti-nutrientes en semilla para luego ser comparado con su contraparte no GM y con siete variedades de referencia no GM (FM958, FM989, ST457, DP399, ST468, Acala Maxxa y FM966). Durante las campañas de crecimiento 2014 y 2015, se llevaron a cabo ensayos en múltiples sitios de las regiones de producción habituales del cultivo en EE. UU.

Cada ensayo consistió en 6 entradas replicadas 4 veces (24 parcelas en total) en un diseño de bloques completamente aleatorizados (DBCA). Todas las parcelas dentro de cada ensayo fueron sometidas a las mismas condiciones de manejo. Las entradas para la evaluación composicional de cada ensayo a campo incluyeron:

- Contraparte no-GM (Entrada A)
- GHB811 no tratado con el herbicida específico del evento (Entrada J)
- GHB811 tratado con el herbicida específico del evento (Entrada K)
- Tres de las siete variedades de referencia no-GM (Entradas B-G, N)

Cuando se analizaron los valores para humedad, cenizas, carbohidratos, grasas crudas, FDA y fibra total dietaria, no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Tampoco se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre A x J (sin tratamiento herbicida) para la FDN. Mientras que se observaron diferencias estadísticamente significativas para proteína cruda entre A x K (con tratamiento herbicida) y A x J (sin tratamiento herbicida).

En cuanto a la FDN se observaron diferencias estadísticamente significativas entre A x K (con tratamiento herbicida). Sin embargo, para todas las entradas, los valores estuvieron dentro del rango de los valores hallados para las variedades no modificadas genéticamente y dentro del intervalo de tolerancia, por lo que no se adjudica a estas diferencias un significado biológico relevante.

Comparación de proximales y fibra en Semillas de algodón GHB811 con su contraparte no GM.[a]

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	GHB811 No tratado (Entrada J)	GHB811 Tratado (Entrada K)	Variedades de referencia no GM (Entradas B-G, N)		Comparación	
				Rango	Intervalo de tolerancia b	t-test A vs j [c]	t-test A vs K [c]
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	Promedio ± SD	(Min-Max)	(Min-Max)	Valor -p	Valor -p
Humedad [% pf]	10.8 ± 1.9	11.1 ± 2.8	11.5 ± 2.7	8.26 - 23.7	2.51 - 20.2	0.534	0.177
Cenizas [% ps]	3.80 ± 0.29	3.80 ± 0.29	3.79 ± 0.42	3.07 - 5.16	2.66 - 4.99	0.983	0.919
Carbohidratos[% ps]	52.3 ± 2.8	53.3 ± 2.6	53.4 ± 2.6	46.3 - 61.0	46.5 - 63.0	0.104	0.084
Grasas crudas [% ps]	20.5 ± 2.8	20.4 ± 2.5	20.5 ± 2.2	13.7 - 24.4	13.6 - 25.6	0.730	0.939
Proteínas crudas [% ps]	23.3 ± 2.6	22.5 ± 2.4	22.3 ± 2.6	15.8 - 28.7	14.9 - 28.8	0.029	0.008
FDA [% ps]	43.0 ± 5.6	42.9 ± 4.2	43.3 ± 3.7	36.6 - 54.1	33.1 - 54.2	0.944	0.721
FDN [% ps]	45.6 ± 3.2	46.7 ± 3.1	46.9 ± 3.0	41.2 - 58.6	39.2 - 57.7	0.094	0.048
Total Fibra dietaria [% ps]	43.7 ± 8.8	47.4 ± 5.3	47.6 ± 6.6	25.2 - 77.0	30.3 - 64.9	0.067	0.058

[a] Las muestras para el análisis de composición se obtuvieron a partir de ocho ensayos a campo realizados en EEUU durante las campañas 2014 y 2015.
[b] Intervalo de tolerancia 99%: Rango de referencia de líneas basado en un intervalo de tolerancia específico para contener el 99% de la población con el 95% de confianza.
[c] *t*-test – Valor *p*: Comparación de pares con la contraparte no GM (Entrada A).

Comparación de aminoácidos en semillas de algodón GHB811 con su contraparte no GM [%ps].[a]

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	GHB811 No tratado (Entrada J)	GHB811 Tratado (Entrada K)	Variedades de referencia no GM (Entradas B-G, N)		Comparación	
				Rango	Intervalo de tolerancia [b]	t-test A vs j [c]	t-test A vs K [c]
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	Promedio ± SD	(Min-Max)	(Min-Max)	Valor -p	Valor -p
Alanina	0.910 ± 0.088	0.904 ± 0.090	0.928 ± 0.088	0.634 - 1.07	0.607 - 1.14	0.729	0.265
Arginina	2.43 ± 0.39	2.40 ± 0.35	2.44 ± 0.35	1.45 - 3.18	1.33 - 3.29	0.597	0.969
A. Aspártico	2.10 ± 0.30	2.12 ± 0.29	2.12 ± 0.31	1.32 - 2.58	1.22 - 2.78	0.684	0.650
Cistina	0.439 ± 0.077	0.421 ± 0.082	0.408 ± 0.067	0.271 - 0.574	0.224 - 0.607	0.257	0.047
A. Glutámico	4.53 ± 0.63	4.52 ± 0.58	4.55 ± 0.64	2.97 - 5.70	2.73 - 6.06	0.918	0.886
Glicina	1.013 ± 0.103	0.988 ± 0.100	1.009 ± 0.106	0.667 - 1.26	0.650 - 1.27	0.256	0.864
Histidina	0.680 ± 0.083	0.666 ± 0.072	0.676 ± 0.074	0.455 - 0.969	0.417 - 0.887	0.376	0.824
Isoleucina	0.743 ± 0.082	0.737 ± 0.076	0.744 ± 0.075	0.518 - 0.866	0.490 - 0.935	0.663	0.951
Leucina	1.38 ± 0.15	1.37 ± 0.14	1.39 ± 0.13	0.942 - 1.64	0.910 - 1.74	0.616	0.700
Lisina	1.05 ± 0.10	1.05 ± 0.12	1.07 ± 0.12	0.746 - 1.30	0.693 - 1.35	0.949	0.461
Metionina	0.319 ± 0.047	0.308 ± 0.055	0.297 ± 0.047	0.188 - 0.384	0.191 - 0.412	0.303	0.047
Fenilalanina	1.29 ± 0.17	1.26 ± 0.16	1.29 ± 0.15	0.801 - 1.57	0.754 - 1.68	0.450	0.953
Prolina	0.877 ± 0.101	0.866 ± 0.093	0.884 ± 0.089	0.595 - 1.08	0.569 - 1.12	0.519	0.665
Serina	1.045 ± 0.112	1.025 ± 0.109	1.035 ± 0.140	0.707 - 1.66	0.626 - 1.39	0.465	0.723
Treonina	0.777 ± 0.071	0.769 ± 0.067	0.776 ± 0.074	0.556 - 0.894	0.537 - 0.954	0.558	0.928
Triptofano	0.241 ± 0.034	0.249 ± 0.036	0.246 ± 0.034	0.177 - 0.293	0.156 - 0.310	0.258	0.460
Tirosina	0.499 ± 0.069	0.473 ± 0.083	0.487 ± 0.068	0.176 - 0.608	0.250 - 0.688	0.100	0.443
Valina	1.036 ± 0.121	1.029 ± 0.115	1.041 ± 0.111	0.720 - 1.24	0.671 - 1.32	0.741	0.808

[a] Las muestras para el análisis de composición se obtuvieron a partir de ocho ensayos a campo realizados en EEUU durante las campañas 2014 y 2015.
[b] Intervalo de tolerancia 99%: Rango de referencia de líneas basado en un intervalo de tolerancia específico para contener el 99% de la población con el 95% de confianza.
[c] t-test – Valor p: Comparación de pares con la contraparte no GM (Entrada A).

Cuando se analizaron los valores para los aminoácidos alanina, arginina, Ac. Aspártico, Ac. glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre A x J (sin tratamiento herbicida) y A x K (con tratamiento herbicida). Por otro lado, tampoco se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre A x J (sin tratamiento herbicida) para cistina y metionina. Mientras que si se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) para dichos aminoácidos entre A x K (con tratamiento herbicida). Sin embargo, para todas las entradas, los valores estuvieron dentro del rango de los valores hallados para las variedades no modificadas genéticamente y dentro del intervalo de tolerancia, por lo que no se adjudica a estas diferencias un significado biológico.

Comparación de los ácidos grasos en semillas de algodón GHB811 con su contraparte no GM (% de ácidos grasos totales) [a]

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	GHB811 No tratado (Entrada J)	GHB811 Tratado (Entrada K)	Variedades comerciales no GM		Comparación	
				Rango	Intervalo de tolerancia [b]	t-test A vs j [c]	t-test A vs K [c]
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	Promedio ± SD	(Min-Max)	(Min-Max)	Valor -p	Valor -p
C12:0 Ácido Laurico	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ - 0.0377	NA	NA	NA
C14:0 Ácido Miristico	0.651 ± 0.150	0.665 ± 0.145	0.665 ± 0.138	0.470 - 1.17	0.217 - 1.11	0.310	0.291
C16:0 Ácido Palmítico	23.2 ± 1.8	23.2 ± 1.8	23.4 ± 1.6	19.7 - 27.6	17.7 - 27.7	0.837	0.342
C16:1 Ácido Palmtoleico	0.486 ± 0.049	0.524 ± 0.052	0.525 ± 0.043	0.392 - 0.641	0.325 - 0.618	<.001	<.001
C17:0 Ácido Hepta-decanoico	0.0820 ± 0.0096	0.0827 ± 0.0116	0.0808 ± 0.0094	0.0653 - 0.1180	0.0517 - 0.1206	0.752	0.569
C17:1 Ácido Hepta-decenoico	0.0436 ± 0.0121	0.0446 ± 0.0116	0.0458 ± 0.0095	0.0175 - 0.0821	0.0050 - 0.0937	0.682	0.376
C18:0 Ácido esteárico	2.37 ± 0.16	2.28 ± 0.17	2.26 ± 0.15	2.00 - 2.97	1.75 - 3.07	<.001	<.001
C18:1 Ácido oleico	14.2 ± 1.0	14.2 ± 1.0	14.2 ± 1.0	13.4 - 20.8	9.2 - 21.3	0.912	0.956
C18:2 Ácido Linoleico	57.3 ± 2.9	57.5 ± 3.0	57.3 ± 2.8	46.3 - 60.7	45.2 - 67.8	0.682	0.877
C18:3 Ácido Linolénico	0.229 ± 0.121	0.228 ± 0.113	0.210 ± 0.109	0.0301 - 0.547	0 - 0.562	0.984	0.481
C18:4 Ácido Estearidónico	<LOQ - 0.0653[e]	<LOQ - 0.0562	<LOQ - 0.0509	<LOQ - 0.0832	NA	NA	NA
C20:0 Ácido Araquídico	0.254 ± 0.032	0.247 ± 0.035	0.244 ± 0.033	0.196 - 0.376	0.117 - 0.388	0.112	0.036
C20:1 Ácido Eicosenoico	0.0666 ± 0.0154	0.0709 ± 0.0166	0.0663 ± 0.0136	0.0396 - 0.0980	0.0289 - 0.1129	0.268	0.931
C20:2 Ácido eicosadienoico	<LOQ	<LOQ - 0.0382	<LOQ - 0.0451	<LOQ	NA	NA	NA
C20:5 Ácido eicosapentaenoico	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ - 0.0427	NA	NA	NA
C22:0 Ácido behénico	0.148 ± 0.021	0.149 ± 0.026	0.148 ± 0.023	0.110 - 0.212	0.074 - 0.224	0.829	0.903
C22:5 N3 Ácido docosapentaenoico	<LOQ - 0.0767	<LOQ - 0.128	<LOQ - 0.0712	<LOQ - 0.104	NA	NA	NA
C22:5 N6 Ácido docosapentaenoico	<LOQ - 0.22	<LOQ - 0.259	<LOQ - 0.185	<LOQ - 0.277	NA	NA	NA
C24:0 Ácido Lignocérico	0.117 ± 0.054	0.099 ± 0.059	0.109 ± 0.071	0.0295 - 0.285	0 - 0.285	0.238	0.603

[a] Las muestras para el análisis de composición se obtuvieron a partir de ocho ensayos a campo realizados en EEUU durante las campañas 2014 y 2015.
[b] Intervalo de tolerancia 99%: Rango de referencia de líneas basado en un intervalo de tolerancia específico para contener el 99% de la población con el 95% de confianza.
[c] t-test – Valor p: Comparación de pares con la contraparte no GM (Entrada A).
[d] <LOQ: Valores por debajo del límite de cuantificación
[e] Cuando más de 1/3 de los valores estuvieron por debajo del LOQ pero se hallaron valores por encima el rango es indicado como <LOQ referente al máximo valor hallado.

Cuando se analizaron los valores para los ácidos: mirístico, palmítico, hepta-decanoico, hepta-decenoico, oleico, linoleico, linolenico, eicosenoico, behénico y lignocérico, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre A x J (sin tratamiento herbicida) y A x K (con tratamiento herbicida). No se observaron diferencias

estadísticamente significativas entre A x J (sin tratamiento herbicida) para ácido araquídico. Mientras que se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) entre A x J (sin tratamiento herbicida) y A x K (con tratamiento herbicida) para los ácidos palmitoleico y esteárico. Por otro lado, también se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) entre A x K (con tratamiento herbicida) para ácido araquídico. Sin embargo, para todas las entradas, los valores estuvieron dentro del rango de los valores hallados para las variedades no modificadas genéticamente y dentro del intervalo de tolerancia, por lo que no se adjudica a estas diferencias un significado biológico relevante.

Comparación de minerales y alfa-tocoferol en semilla de algodón GHB811 con su contraparte no GM (mg/kg ps)[a]

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	GHB811 No tratado (Entrada J)	GHB811 Tratado (Entrada K)	Variedades de referencia no GM (Entradas B-G, N)		Comparación	
				Rango	Intervalo de tolerancia [b]	t-test A vs j [c]	t-test A vs K [c]
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	Promedio ± SD	(Min-Max)	(Min-Max)	Valor -p	Valor -p
Calcio	983 ± 288	1022 ± 296	1039 ± 270	702 - 1960	456 - 1930	0.435	0.263
Cobre	6.19 ± 2.35	6.21 ± 2.55	6.15 ± 2.27	1.99 - 11.5	0 - 13.3	0.937	0.835
Hierro	37.2 ± 6.7	36.1 ± 6.1	37.1 ± 6.8	22.1 - 60.1	13.2 - 60.0	0.415	0.937
Magnecio	4013 ± 489	4002 ± 486	3917 ± 355	2848 - 5328	2380 - 5438	0.896	0.226
Manganeso	12.9 ± 2.5	12.5 ± 2.0	12.4 ± 2.2	9.94 - 25.2	5.35 - 23.4	0.111	0.077
Fosforo	6613 ± 1298	6749 ± 960	6449 ± 1277	3888 - 9333	3137 - 10251	0.466	0.381
Potasio	12287 ± 1158	12508 ± 1385	12193 ± 943	10263 - 15727	9269 - 15027	0.342	0.684
Sodio	30.3 ± 15.5	37.3 ± 29.8	32.5 ± 24.9	10.0 - 148	0 - 74.9	0.116	0.626
Zinc	33.7 ± 5.4	33.7 ± 5.8	33.2 ± 5.8	21.5 - 49.6	17.2 - 50.3	0.957	0.553
Alfa - Tocoferol	121.6 ± 19.1	109.8 ± 18.1	109.1 ± 15.0	49.8 - 141	37.0 - 157	0.002	0.001

[a] Las muestras para el análisis de composición se obtuvieron a partir de ocho ensayos a campo realizados en EEUU durante las campañas 2014 y 2015.
[b] Intervalo de tolerancia 99%: Rango de referencia de líneas basado en un intervalo de tolerancia específico para contener el 99% de la población con el 95% de confianza.
[c] *t*-test – Valor *p*: Comparación de pares con la contraparte no GM (Entrada A).

Cuando se analizaron los valores para calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, fósforo, potasio, sodio y zinc, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre A x J (sin tratamiento herbicida) y A x K (con tratamiento herbicida). Mientras que si se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) entre A x J (sin tratamiento herbicida) y A x K (con tratamiento herbicida) para Alfa-tocoferol. Sin embargo, para todas las entradas, los valores para minerales y alfa-tocoferol estuvieron dentro del rango de los valores hallados para las variedades no modificadas genéticamente y dentro del intervalo de tolerancia, por lo que las diferencias estadísticamente significativas no se consideran biológicamente relevantes.

Comparación de anti-nutrientes en semilla de algodón GHB811 con su contraparte no GM [a]

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	GHB811 No tratado (Entrada J)	GHB811 Tratado (Entrada K)	Variedades de referencia no GM (Entradas B-G, N)		Comparación	
				Rango	Intervalo de tolerancia [b]	t-test A vs j [c]	t-test A vs K [c]
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	Promedio ± SD	(Min-Max)	(Min-Max)	Valor -p	Valor -p
Gossipol Libre (%ps)	0.591 ± 0.145	0.534 ± 0.122	0.526 ± 0.118	0.273 - 0.941	0.106 - 1.15	0.007	0.002
Gossipol total (%ps)	0.804 ± 0.167	0.700 ± 0.160	0.735 ± 0.145	0.346 - 1.34	0.153 - 1.53	0.002	0.033
Ácido Dihidroestericólico	0.198 ± 0.052	0.188 ± 0.062	0.169 ± 0.048	0.126 - 0.407	0.0972 - 0.438	0.405	0.021
Ácido Malvalico	0.380 ± 0.176	0.384 ± 0.147	0.355 ± 0.172	0.014 - 0.983	0 - 1.062	0.928	0.533
Ácido estercúlico	0.146 ± 0.066	0.136 ± 0.056	0.127 ± 0.062	0.014 - 0.366	0 - 0.423	0.527	0.236

[a] Las muestras para el análisis de composición se obtuvieron a partir de ocho ensayos a campo realizados en EEUU durante las campañas 2014 y 2015.
[b] Intervalo de tolerancia 99%: Rango de referencia de líneas basado en un intervalo de tolerancia específico para contener el 99% de la población con el 95% de confianza.
[c] *t*-test – Valor *p*: Comparación de pares con la contraparte no GM (Entrada A).

Cuando se analizaron los valores para ácido malvalico y estercúlico, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para A x K (con tratamiento herbicida) y A x J (sin tratamiento herbicida). Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre A x J (sin tratamiento herbicida). Mientras que se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) para gossipol libre y gossipol total entre A x J (sin tratamiento herbicida) y A x K (con tratamiento herbicida). También se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) entre A x K (con tratamiento herbicida) para el ácido dihidroestericólico. Sin embargo, para los anti-nutrientes, los valores estuvieron dentro del rango de los valores hallados para las variedades no modificadas genéticamente y dentro del intervalo de tolerancia, por lo que las diferencias estadísticamente significativas no se consideran biológicamente relevantes.

Comparando los niveles de nutrientes y anti-nutrientes de la semilla de algodón GHB811 (tratada y no tratada con los herbicidas específicos) con la contraparte no GM, se observaron diferencias estadísticamente significativas en 11 de los 54 analitos examinados. Sin embargo, los valores medios de los analitos se encuentran dentro del rango de las variedades de referencia y dentro de los intervalos de tolerancia. Por lo tanto, si bien existen diferencias estadísticamente significativas, las mismas no se consideran biológicamente relevantes. Basándonos en la evaluación comparativa, podemos decir que los valores de nutrientes y anti-nutrientes en semillas de algodón GHB811, son comparables a los presentes en la contraparte no GM y en las variedades de referencia.

Estos resultados apoyan la conclusión general de que el evento de algodón GHB811 no fue un contribuyente importante en la variación de los niveles de componentes en el grano y confirmaron la equivalencia substancial del evento con el control convencional en los niveles de estos componentes. Las diferencias estadísticamente significativas que se observaron no fueron composicionalmente significativas desde un punto de vista de seguridad alimentaria para animales.

Probabilidad de ocurrencia

De acuerdo a los estudios realizados por el solicitante, es **Poco Probable** que el algodón GHB811 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 que el algodón GHB811 mostrara 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 es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional excepto por la característica nueva introducida, 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

¿Existe familiaridad basada en introducciones con historial de uso seguro?
SI. El evento GHB811 cuenta con autorizaciones para diversos usos en los siguientes países: Australia, Canadá y Nueva Zelanda para consumo humano y Estados Unidos para consumo humano, animal y siembra.

¿Es la planta modificada genéticamente un producto de métodos genéticos clásicos?
No. El algodón GHB811 fue obtenido por transformación con *Agrobacterium tumefaciens* usando el vector pTSIH09, el cual contiene los casetes de expresión de los genes hppdPfW336-1Pa y 2mepsps. Dichos genes son idénticos a los presentes en el evento de soya FG72, proviniendo de los mismos organismos donantes. El gen hppdPfW336-1Pa proviene de Pseudomonas (*Pseudomonas fluorescens*), mientras que el gen 2mepsps proviene de maíz (*Zea mays* L.).

¿La planta modificada genéticamente, es fenotípicamente equivalente a un producto de un método clásico?
SI. El algodón Evento GHB811 presenta todas las características fenotípicas de un algodón convencional.

¿Puede haber cruces con otras especies presentes?
Eventualmente si, aunque no es probable por que el permiso no es para sembrar el algodón Evento GHB811 en el país, es sólo para producir alimento para consumo animal.

¿En qué parte de la planta se acumulan las proteínas transgénicas?
En toda la planta. Los promotores son constitutivos.

¿Se esperan cambios en el consumo humano o animal?
No. El algodón GHB811 no presenta cambios adicionales o no intencionales en la composición nutricional. Los análisis determinaron que este algodón es sustancialmente equivalente a su contraparte no transgénica.

III. EFECTOS POTENCIALES DEL ALGODÓN GHB811 EN EL AMBIENTE.

¿Existe probabilidad que la característica se fije en poblaciones naturales mediante cruzamientos accidentales?
Aunque es muy baja, la probabilidad de cruzamiento accidental existe. Esto porque, si bien el permiso no es para sembrar algodón Evento GHB811 en el país, hay que tener en cuenta que se puede comercializar como grano, el cual, en la mayoría de los casos, conserva las características y propiedades de la semilla.

¿Hay cambios en la progenie obtenida por cruzamiento convencional?
No. No se producen cambios diferentes a los esperados de acuerdo con la herencia mendeliana.

¿Cuál es el modo de acción de las proteínas?
La proteína HPPD W336 es una modificación de la 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa de *Pseudomonas fluorescens* cepa A32 mediante el reemplazo de aminoácido glicina 336 por triptófano. Esta modificación le confiere a la proteína una mejora en la tolerancia a inhibidores de HPPD.

Los herbicidas inhibidores de HPPD actúan por fotooxidación de la clorofila en el follaje de las malezas por acción de la luz solar inhibiendo la biosíntesis de los pigmentos carotenoides, los cuales son esenciales para proteger la clorofila de la descomposición por la luz solar. Como resultado de la fotooxidación de los pigmentos de la clorofila procede la destrucción de los cloroplastos y muerte de la planta.

La enzima 5-enolpiruvilshikimato3-fosfato sintasa (2mEPSPS), que es insensible a la desactivación por glifosato y confiere así tolerancia a los herbicidas cuyo principio activo es el glifosato.

El glifosato se une específicamente e inactiva a la enzima 5-enolpiruvilshikimato3-fosfato sintasa (EPSPS), la cual es parte de una importante ruta bioquímica vegetal llamada ruta del shikimato.

La ruta del shikimato está involucrada en la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina y triptófano, así como de otros compuestos aromáticos. Cuando las plantas convencionales son tratadas con glifosato, estas no pueden producir los aminoácidos aromáticos esenciales para su supervivencia. El gen 2mepsps ha sido modificado a través de mutagénesis sitiodirigida, de forma que le es posible codificar una enzima insensible a la desactivación por glifosato. Los cultivos de algodón modificados permiten a los productores utilizar herbicidas que contienen glifosato para el control de malas hierbas en el cultivo de algodón.

¿Expresa la planta los niveles esperados de resistencia y/o tolerancia?
Si. Esto se evidencia porque los resultados de los ensayos muestran que el algodón Evento GHB811 es tolerante a inhibidores de HPPD y a herbicidas cuyo principio activo es el glifosato.

¿Se esperan cambios en el consumo humano o animal?
No. Tal como muestran los datos suministrados por el solicitante y la literatura general, la calidad nutricional del algodón Evento GHB811 no cambia, por lo tanto, no implica que haya un cambio en las cantidades y calidades del consumo.

IV. RECOMENDACION
Teniendo en cuenta:

1) Que Colombia No es considerada centro de origen del cultivo de algodón.

2) Que el algodón Evento GHB811 tiene muy pocas posibilidades de convertirse en supermaleza o en maleza persistente.

3) Que el algodón Evento GHB811 y los alimentos para consumo animal derivados de él son tan seguros y nutritivos como las variedades comerciales.

4) Que la calidad nutricional del algodón Evento GHB811 es equivalente a su contraparte no transgénica y a algunas variedades e híbridos comerciales.

5) Que los niveles expresados de las proteínas transgénicas son suficientes para mantener las características de tolerancia al a inhibidores de HPPD y a herbicidas cuyo principio activo es el glifosato.

6) Que la inocuidad de las proteínas expresadas ya ha sido evaluada en diferentes ensayos, sin que se haya evidenciado algún potencial tóxico o alergénico.

7) Que las proteínas transgénicas expresadas del algodón Evento GHB811 tienen muy pocas posibilidades de ser alergénicas y de causar efectos adversos en la salud humana y animal.

8) Que el algodón Evento GHB811 ya fue autorizado para consumo humano y animal en otros países, sin que se hayan detectado sucesos adversos ni para estos organismos, ni para el medio ambiente.

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 **Evento GHB811** como alimento o como materia prima para la elaboración de alimentos de consumo animal.