



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

PARECER TÉCNICO 5400/2017

Liberação Comercial

Processo: 01200.001959/2015-63

Data de Protocolo: 29/05/2015

Próton: 29044/15

Assunto: Liberação Comercial

Requerente: Bayer S.A

CQB: 05/96

CNPJ: 18.459.628/0001-15

Endereço: Rua Domingos Jorge, 1100 Prédio 9701, 04779-900, São Paulo, SP

Presidente da CIBio: Gustavo Paoli

Extrato Prévio: 4672/2015

Decisão: DEFERIDO

Reunião: 200ª. Reunião Ordinária Ocorrida em 09/03/2017

Fundamentação Técnica:

A CTNBio, após apreciação de pedido de parecer para liberação comercial do algodão geneticamente modificado Glytol x TwinLink (GLT) x COT102, doravante denominado GLTC, e de seus subprodutos, para fins de liberação comercial no Brasil, concluiu pelo DEFERIMENTO.

O algodão GLTC, OGM da Classe de Risco 1, contém os seguintes eventos genéticos: evento GHB614, que possui o gene *2mepsps* derivado de milho (*Zea mays*) e confere tolerância ao herbicida glifosato; evento T304-40, que possui o gene *cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis* subsp. *berliner 1715* e o gene *bar* da bactéria *Streptomyces hygroscopicus*, que conferem resistência a insetos da ordem Lepidóptera e tolerância ao herbicida glufosinato, respectivamente; o evento GHB119, que contém o gene *cry2Ae* de *Bacillus thuringiensis* subsp. *Dakota* e o gene *bar* de *Streptomyces hygroscopicus*, que conferem resistência a insetos da ordem Lepidóptera e tolerância ao herbicida glufosinato, respectivamente e o evento COT102, que contém o gene *vip3A(a)19* de *Bacillus thuringiensis* estirpe AB88, que confere

resistência a insetos da ordem Lepidoptera. O evento COT102 também contém o gene *aph4* derivado de *E. coli* e que é empregado como marcador seletivo neste evento e que permite o crescimento das células vegetais transformadas em meio artificial de crescimento contendo o antibiótico higromicina B.

O algodão GLTC foi obtido através de melhoramento genético clássico, a partir dos seguintes cruzamentos: inicialmente pelo cruzamentos e seleção entre indivíduos contendo os eventos T304-40 e GHB119 para obtenção do algodão TwinLink. Posteriormente, foi realizado o cruzamento do algodão TwinLink com indivíduos derivados do Evento GHB614 (GlyTol), resultando na combinação GlyTol x TwinLink (GLT). Finalmente, foi realizado o cruzamento de plantas do algodão GlyTol x TwinLink com plantas de algodão contendo o evento COT102, resultando na combinação final GLTC (GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102). Assim, o milho GLTC apresenta os fenótipos de tolerância aos herbicidas glifosato e glufosinato de amônio e de resistência a insetos da ordem Lepidoptera por produzir proteínas inseticidas das classes Cry e Vip.

A CTNBio já avaliou a biossegurança do evento GHB614 (algodão GlyTol), tendo autorizado a sua liberação comercial no Brasil em dezembro de 2010 através do Parecer Técnico N° 2754/2010. Da mesma maneira, já avaliou o evento duplo combinado T304-40 x GHB119 (TwinLink), aprovando sua liberação comercial no Brasil em fevereiro de 2011 através do Parecer Técnico N° 2795/2011. O evento triplo combinado GlyTol x TwinLink (GLT) também já teve a sua biossegurança avaliada pela CTNBio, tendo sido aprovada a sua liberação comercial no Brasil em maio de 2012 através do Parecer Técnico N° 3286/2012. O evento COT102 está presente no algodão COT102 x MON15985 x MON88915, aprovado para liberação comercial no Brasil pela CTNBio em julho de 2016 (Extrato de Parecer Técnico N° 5.155/2016, publicado no DOU de 30/08/2016, página 8, Seção 1). Portanto, dos eventos piramidados presentes no algodão GLTC, todos já foram avaliados pela CTNBio, individualmente ou em combinações. Assim, o algodão GLTC trata-se de um OGM que contém genes presentes em outros OGMs já analisados e aprovados pela CTNBio quanto à biossegurança.

A segurança alimentar humana e animal do presente algodão foi analisada através de estudos de composição química e nutricional comparativamente ao cultivar convencional. Os resultados comprovaram que o algodão geneticamente modificado não difere do algodão convencional em sua composição química e nutricional, exceto pela presença e expressão dos genes descritos, conforme esperado.

A segurança ambiental do evento foi analisada em estudos realizados no Brasil e em outros países que demonstraram que o algodão geneticamente modificado não difere do algodão convencional em características agrônomicas, morfológicas, reprodutivas, assim como é equivalente em composição química e nutricional com exceção apenas às características de tolerância a herbicidas e resistência a insetos. O fenótipo das plantas transformadas contendo os genes descritos é similar ao fenótipo da planta original no que se refere aos órgãos reprodutivos, à duração do período de desenvolvimento da planta, ao seu método de propagação. Além disso, a soja contendo o referido evento de transformação, assim como o milho convencional, não apresenta tendência a proliferar-se como planta daninha, e não é uma espécie invasiva em ecossistemas naturais.

Para o presente parecer foram analisados os relatórios apresentados pela requerente bem como literatura científica independente. Considerando as particularidades das diferentes regiões do país, estudos científicos realizados para avaliação de biossegurança, características agrônomicas e fenotípicas, como parte da avaliação de risco deste OGM, foram incluídas regiões representativas para a cultura da soja no território brasileiro. A CTNBio concluiu que o presente algodão não é potencialmente causador de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica ao milho convencional. As restrições ao uso do OGM em análise e seus derivados estão condicionadas ao disposto na Lei 11.460, de 21 de março de 2007.

PARECER TÉCNICO

I - Identificação do OGM

Designação do OGM: Algodão Glycol x TwenLink (GLT) x COT102 (GLTC), contendo os eventos GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102

Espécie: *Gossypium hirsutum*

Característica Inserida: resistência a insetos pragas da ordem Lepidóptera e tolerância a herbicidas à base de glifosato e glufosinato de amônio.

Uso proposto: livre uso no meio ambiente, registro, consumo humano ou animal, comércio ou uso industrial e qualquer outro uso ou atividade relacionada ao evento ou seus subprodutos.

Método de introdução da característica: A transformação genética dos eventos GHB614, T304-40, GHB119 e COT102 utilizou o sistema mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. A combinação para obter o algodão GLTC se deu através de cruzamentos por método de melhoramento genético clássico.

Proteínas Expressas: 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (2mEPSPS), fosfinotricina-N-acetil transferase (PAT), Cry1Ab, Cry2Ae, VIP3A(a)19 e higromicina-B fosfotransferase (APH4).

II - Informações gerais

Os eventos parentais, isolados ou em combinações, são produtos que já passaram pelo crivo de avaliação de biossegurança de várias agências regulatórias no âmbito mundial, conforme compilado na tabela 1 abaixo.

Tabela 1. Lista de países que contem algum tipo de aprovação comercial para os eventos isolados GHB614, T304-40, GHB119, COT102 ou suas combinações, para uso em alimentos (Food), rações (Feed) ou cultivo (Environment).

Países	COT102	GHB614	T304-40	GHB119	T304-40 x GHB119	GHB614 x T304-40 x GHB119	GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102	COT102 x MON15985 x MON88913
Austrália	X	X	X	X			X	X
Brasil		X			X	X		X*
Canadá	X	X	X	X	X			
China	X	X	X	X				

Colômbia	X	X						
Costa Rica		X						
União Europeia		X	X					
Japão	X	X	X	X			X	X
Malásia		X						
México	X	X				X		
Nova Zelândia	X	X	X	X				
Filipinas	X							
Coréia do Sul	X	X		X	X	X	X	X
Taiwan	X	X	X	X		X	X	X
Estados Unidos	X	X	X	X				

Fonte: <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/eventslist/default.asp> Acesso em 04/03/2017

***Fonte:** CTNBio e ISAAA

Em relação ao algodão GLTC, objeto do presente pleito, o mesmo já foi aprovado na Austrália (2016) e Japão (2015) para uso na alimentação humana e animal e plantio e, na Coréia do Sul (2015) e Taiwan (2015), para uso na alimentação humana.

Para a análise da biossegurança do OGM a requerente apresentou um dossiê, com 658 páginas, com dados experimentais obtidos em análises de laboratório e de experimentos de campo conduzidos nos Estados Unidos da América e no Brasil.

Dados produzidos nos Estados Unidos: durante a safra de 2013, em experimentos de campos realizados em Chula, Georgia; Proctor, Arkansas e San Angelo, Texas, para a determinação dos níveis de expressão das proteínas Cry1Ab, Cry2Ae, VIP3Aa19, 2mEPSPS, PAT e APH4 em diferentes matrizes coletadas em diferentes estágios fenológicos de plantas de algodão geneticamente modificadas;

Dados produzidos no Brasil: Análise composicional e análise de componentes nutricionais e anti-nutricionais, avaliação da artropodofauna, avaliação da comunidade microbiana do solo e avaliação da biodegradabilidade da biomassa no solo de plantas do algodão geneticamente modificado GLTC, em

experimentos de campo realizados na Safra 2013/2014 nas localidades de Poxoréu-MT, Sapezal-MT e Barreiras-BA, duas das principais regiões de produção de algodão no Brasil, responsáveis por 87,4% da produção brasileira na safra 2015/2016 (CONAB, 2017). O Brasil, atualmente, é o quinto maior produtor mundial de algodão em caroço, atrás apenas da Índia, China, Estados Unidos e Paquistão, e o quarto maior exportador (USDA, 2017).

III – Descrição do OGM e Características Moleculares

O algodão GLTC, contendo a combinação de eventos GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102, expressa três proteínas (Cry1Ab, Cry2Ae e VIP3A) com ação biológica sobre pragas lepidópteras importantes na cultura do algodão. A expressão de duas proteínas Cry, além da proteína VIP3A, traz a vantagem adicional do uso desta tecnologia sobre a probabilidade mínima de surgimento de população de pragas-alvo resistentes (FERRÉ e Van RIE, 2002). A combinação de proteínas inseticidas é uma alternativa eficiente para o manejo de resistência, visto que combinações efetivas podem ser usadas no desenvolvimento de variedades de plantas transgênicas, pois as proteínas VIP3 não têm semelhança com as Cry e, portanto, reconhecem diferentes receptores no intestino médio de larvas suscetíveis (ABDELKEFI-MESRATI et al., 2011). Eventos piramidados oferecem alternativa viável para retardar a resistência em populações de insetos-praga. A principal vantagem deste método é que a resistência causada por uma toxina pode não acarretar resistência cruzada à outra toxina (ALYOKHIN, 2011), uma vez que os receptores são diferentes. Segundo ABDELKEFI-MESRATI et al. (2011), as diferenças entre toxinas de *B. thuringiensis* são muito importantes, e o uso de toxinas VIP3 juntamente com as Cry seria indicado para inibir a resistência em insetos-pragas. Alternativas para retardar a evolução da resistência têm sido bastante estudadas e misturas de toxinas têm sido consideradas mais eficazes se utilizadas antes da evolução da resistência, mesmo sob pressão de seleção contínua (LEE et al., 2003; XUE et al., 2005; BERGAMASCO et al., 2013).

A dupla seletividade a herbicidas, dada pela expressão das enzimas enzima 5-enolpiruvil chiquimato-3-fosfato sintase (2mEPSPS) e fosfinotricina-N-acetil transferase (PAT), poderá ampliar para o agricultor as alternativas de manejo de plantas daninhas, o qual poderá escolher o produto a ser usado de acordo com o espectro de plantas invasoras, nível de infestação e, principalmente, permitirá a alternância de modos de ação, o que reduz a seleção de biótipos resistentes e até mesmo auxiliar no controle daqueles indivíduos que já tenham apresentado alguma insensibilidade a um determinado herbicida. O manejo integrado, com rotação de herbicidas, é a melhor forma de reduzir a resistência das plantas daninhas a herbicidas (BOERBOOM e OWEN, 2006; NORSWORTHY et al., 2012, EVANS et al., 2016).

O evento GHB614 contém o gene *2mepsps*, responsável pela expressão da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (2mEPSPS) que confere tolerância a herbicidas à base de glifosato, é originado do gene *epsps* em milho (*Zea mays*) apenas com alterações em 2 (dois) aminoácidos na sequência original realizadas via mutação dirigida (LEBRUN et al., 1997), quais sejam, a substituição de uma treonina por isoleucina na posição 103 e de prolina por uma serina na posição 107. A enzima 2mEPSPS, polipeptídeo com peso molecular de 47 kDa e 445 aminoácidos, apresenta alta similaridade com a sequência de EPSPS de milho (>99,5%), arroz (86%), uva (79%), alface (77%), tomate (75%) e canola (75%) (HEROUET-GUICHENEY et al., 2009). A modificação no genoma da variedade de algodão Coker 312 ocorreu através do sistema mediado por *Agrobacterium tumefaciens* contendo o vetor pTEM2. O Evento GHB614, GlyTol, já havia sido objeto de avaliação de sua biossegurança pela CTNBio, conforme consta do Processo Administrativo nº 01200.000800/2010-17, que deferiu pela sua liberação comercial.

O Algodão TwinLink, resultante do cruzamento dos eventos T304-40 e GHB119, expressa os genes *cry1Ab* e *bar* (no Evento T304-40) e os genes *cry2Ae* e *bar* (no Evento GHB119). Com isso, o TwinLink

resulta numa linhagem que expressa, conseqüentemente, as proteínas inseticidas Cry1Ab e Cry2Ae e a enzima PAT. A d-endotoxina Cry1Ab corresponde a um fragmento da Cry1Ab produzida pela bactéria *B. thuringiensis* subsp. *berliner* 1715, precedida na sua seqüência por uma metionina e uma alanina. A Cry1Ab é uma proteína com 617 aminoácidos e peso molecular de aproximadamente 69 kDa, sendo equivalente à proteína original de *Bacillus* após as clivagens por tripsina, apenas com exceção do C-terminal estar truncado e da presença de uma alanina no N-terminal. O gene *cry2Ae* foi isolado de *B. thuringiensis* subsp. *Dakota*, sendo que sua seqüência nucleotídica foi modificada na razão C/G para melhor expressão nas células vegetais. A proteína Cry2Ae é constituída por 631 aminoácidos, com um peso molecular de aproximadamente 71 kDa. O gene *bar* tem origem no organismo doador *Streptomyces hygroscopicus*, uma bactéria de solo não patogênica a plantas, homens ou animais (THOMPSON et al., 1987). O produto da expressão, a enzima PAT, é responsável pela característica de tolerância ao herbicida glufosinato de amônio. Os Eventos T304-40 e GHB119 foram obtidos pela inserção dos genes de interesse e os elementos reguladores no genoma das variedades de algodão Coker 315 e Coker 312, respectivamente. A modificação genética nos Eventos T304-40 e GHB119 utilizou o sistema mediado por *Agrobacterium tumefaciens* contendo o vetor plasmidial pTDL008 e pTEM12, respectivamente. Tanto o Algodão TwinLink (Eventos T304-40 x GHB119), como a combinação GlyTol x TwinLink (GHB614 x T304-40 x GHB119), já haviam sido objetos de avaliação de sua biossegurança pela CTNBio, conforme consta dos Processos Administrativos nº 01200.002699/2010-39 e 01200.001157/2011-20, respectivamente. Ambos foram deferidos para liberação comercial.

O evento COT102 foi obtido através da inserção de dois genes: *vip3A(a)19* e *aph4*, através do método de transformação mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. O gene *vip3A(a)19* é derivado da bactéria *Bacillus thuringiensis*, estirpe AB88 (ESTRUCH et al., 1996). Este gene é responsável pela expressão da proteína VIP3A(a)19 ou VIP3A, uma cadeia polipeptídica de 789 aminoácidos e peso molecular de aproximadamente 89 kDa. Diferentemente das proteínas Cry, a VIP3A e outras proteínas inseticidas vegetativas (vegetative insecticidal proteins - VIPs) são produzidas durante o crescimento vegetativo bacteriano e secretadas como proteínas solúveis no meio extracelular. Além de sua já demonstrada atividade inseticida, VIP3A não é descrita como tendo qualquer outra atividade biológica ou função catalítica conhecida. Apesar de a proteína VIP3A não demonstrar homologia com nenhuma proteína Cry conhecida, testes laboratoriais têm estabelecido que a VIP3A é similarmente muito específica na sua atividade, demonstrando toxicidade apenas para larvas de algumas espécies lepidópteras. Já o gene *aph4*, originário da bactéria *E. coli*, foi inserido como gene marcador para seleção das células transformadas em meios de cultura contendo o antibiótico higromicina B. A expressão da enzima higromicina-B fosfotransferase é regulada pelo promotor ubiquitina-3 de *Arabidopsis thaliana*.

Para demonstrar a integridade e estabilidade dos insertos nos respectivos Eventos ao longo de várias gerações, bem como quantificar o número de cópias inseridas no genoma, foram utilizadas análises de Southern blot, conforme metodologia descrita por VROH BI et al. (1996). As análises foram realizadas em amostras de DNA extraídas de tecidos dos Eventos parentais (GLT e COT102) do evento GLTC, em plantas controle da variedade convencional, além de DNA controle dos plasmídeos utilizados nas transformações. As amostras de DNA foram fragmentadas com endonucleases de restrição, os fragmentos foram separados por eletroforese em gel de agarose, transferidos para membranas de nylon e hibridizados com sondas específicas marcadas com ³²P. As análises por *Southern blot* no algodão GlyTol x TwinLink demonstram haver o mesmo padrão de bandas que as presentes nos respectivos parentais. Portanto, a estrutura do inserto, sua localização e estabilidade não foram alteradas pela combinação. Foi demonstrada a presença de uma cópia intacta do cassete contendo o gene *2mepsps* no Evento GHB614. Já o inserto presente no Evento T304-40 consiste de uma cópia quase completa do T-DNA, flanqueado por uma cópia incompleta e invertida do cassete *cry1Ab* e uma adicional do terminador 3´me1. Para o Evento GHB119, observou-se que o inserto presente no Evento consiste de uma única cópia integral do T-DNA, correspondendo à seqüência original delineada no vetor. Os resultados das análises evidenciam que o Evento COT102 contém uma única cópia intacta do inserto de T-DNA do plasmídeo pCOT1. Os dados

também indicam a ausência de qualquer sequência estrutural do vetor que não esteja dentro dos limites das bordas do T-DNA.

Análises das regiões flangeadoras foram realizadas nos Eventos isolados, indicando que as sequências presentes no genoma das plantas geneticamente modificadas são as mesmas daquelas presentes nos vegetais antes da inserção da construção. Foram observadas pequenas deleções de alguns poucos pares de bases nos Eventos GHB614, T304-40, GHB119, bem como o surgimento de ORF no genoma do GHB614. Análises complementares demonstraram que nenhum destes aspectos representaram impactos significativos ou de relevância à biossegurança para estes produtos, não modificando o fenótipo do algodoeiro para as características parentais, resistência a insetos ou tolerância a herbicidas.

Os dados apresentados indicam que o evento COT102, presente no algodão GLTC, analisado em cinco gerações, está presente em um único locus e apresenta um padrão de herança mendeliana. Os outros eventos piramidados presentes no algodão GLTC também apresentam esta mesma característica.

No dossiê apresentado pela solicitante são apresentados dados referentes à avaliação da expressão de proteínas no algodão GLTC, seus parentais, e nos eventos isolados. Em relação à expressão das proteínas exógenas do algodão GLTC, os níveis mais altos e mais baixos de expressão para todas as proteínas avaliadas foram observados na folha durante o estágio inicial de formação do botão floral e no pólen, respectivamente. Níveis de expressão proteicos nos diversos tecidos foram similares para as respectivas entradas, independentemente do tratamento com o herbicida específico para cada evento. Os níveis de expressão de Cry1Ab, Cry2Ae, VIP3Aa19, 2mEPSPS e APH4 observados nos Eventos combinados foi similar para seus genótipos parentais correspondentes. Como esperado, a expressão da proteína PAT foi maior nos eventos combinados (eventos TwinLink, GLT e GLTC) quando comparados com os eventos isolados, fato que se deve, provavelmente, ao fato de tais eventos conterem duas cópias do gene bar, provenientes dos eventos parentais T304-40 e GHB119 (TwinLink). Estas evidências apresentadas reforçam a hipótese de que não há interação entre os genes ou mesmo entre as proteínas no algodão GLTC.

Em relação às técnicas de detecção gerais e específicas do OGM (algodão Glycol x TwenLink (GLT) x COT102 (GLTC), contendo os eventos GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102), o mesmo pode ser detectado por:

- a. De maneira inespecífica, por kits comerciais que utilizam de fitas imunocromatográficas ou teste de tiras (LFS – lateral flow strips) para as proteínas Cry1Ab, Cry2Ae, VIP3A. Também existem kits para identificar a presença das proteínas 2mEPSPS e PAT;
- b. Outro método é a técnica de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), que permite, por imunoensaio, a detecção e quantificação da proteína-alvo de forma específica. Há no mercado kits para a detecção de todas as proteínas expressas pelo evento GLTC;
- c. Um método que detecta e quantifica as proteínas expressas pelo OGM é a Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (Real Time-PCR), que amplifica trechos específicos do DNA inserido. A requerente possui os iniciadores, materiais de referência (sementes, DNA genômico) e a metodologia específica para os laboratórios interessados em validar o procedimento de detecção por PCR.

IV- Avaliação de Risco à Saúde Humana e Animal

O uso do algodão na cadeia alimentar destina-se, essencialmente, para uso animal, a forma de farelo e torta de algodão. Na alimentação humana, o seu uso é na forma de óleo extraído das sementes. O óleo é altamente processado e essencialmente livre impurezas, ou seja, está isento do OGM, DNA, proteínas ou

outros derivados de OGMs.

As variedades de algodão em comercialização atualmente apresentam algumas limitações para o uso dos seus subprodutos in natura devido à presença de fatores antinutricionais e/ou tóxicos tais como o gossipol, os ácidos ciclopropanóides e o ácido fítico.

Os níveis destes elementos são diminuídos sensivelmente após os processos de desodorização (processamento por altas temperaturas) e refinamento do óleo. A presença de tais componentes antinutricionais são características da espécie, portanto, não tem nenhuma relação com o fato de ser variedade geneticamente modificada ou convencional.

A proponente menciona em seu documento que para o parental GlyTol x TwinLink (GHB614 x T304-40 x GHB119), as informações sobre a segurança alimentar já foram amplamente analisadas pela CTNBio, sendo que tal produto já está aprovado por esta Comissão. É comentado ainda que produtos alimentícios derivados de algodão (óleo de semente de algodão refinado e fibras celulósicas de linter) são altamente processados e essencialmente livres de quaisquer proteínas. Ademais, não foi detectado rastros da proteína VIP3A em óleo refinado ou em fibras de algodão produzidas por plantas derivadas do Evento COT102 em estudos internos realizados pela Syngenta (Dossiê para aprovação comercial do Evento COT102 submetido ao USDA “Application for the Determination of Non-Regulated Status for Lepidopteran Insect Protected VIP3A Cotton Transformation Event COT102”, Syngenta, USA, 217p. 2003 - https://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/03_15501p.pdf Acesso em 17/11/2016). Portanto, não é esperado que haja exposição de proteínas heterólogas na dieta humana ou animal através da ingestão de subprodutos do algodão GLTC.

Mesmo com a hipótese de baixa exposição às proteínas, a análise de risco para saúde humana e animal considerou os seguintes dados: caracterização molecular do DNA inserido (Itens 1.9 e 1.14 do documento); nível de expressão das proteínas exógenas (Item 1.10.5); análise nutricional/composicional (Item 2.3); estudo de alimentação animal (Item 2.4); digestibilidade das proteínas (Item 2.5); toxicidade aguda (Item 2.9) e homologia das proteínas com compostos tóxicos / alergênicos (Item 2.10).

Os dados moleculares indicaram que os insertos presentes no algodão GLTC referem-se unicamente aos componentes genéticos esperados e que as inserções não resultaram em deleções ou expressões de novos genes que possam causar efeitos negativos à saúde;

Foram determinados os níveis de expressão das proteínas Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3Aa19, 2mEPSPS, PAT/bar e APH4 em diferentes matrizes coletadas em diferentes estágios fenológicos de plantas de algodão geneticamente modificadas cultivadas em três ensaios a campo nos Estados Unidos durante a safra de 2013. Os níveis mais altos e mais baixos de expressão para todas as proteínas avaliadas foram observados na folha durante o estágio inicial de formação do botão floral e no pólen, respectivamente. Níveis de expressão proteicos nos diversos tecidos foram similares para as respectivas entradas. Os níveis de expressão de Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3Aa19, 2mEPSPS e APH4 observados nos Eventos combinados foi similar para seus genótipos parentais correspondentes. Para a proteína PAT o nível de expressão foi maior nos Eventos combinados pelo fato de ter o gene presente tanto no Evento T304-40 como no GHB119, portanto, foram resultados esperados. Estas evidências apresentadas reforçam a hipótese de que não há interação entre os genes ou mesmo entre as proteínas no algodão GLTC.

Dados de composição química/nutricional (análise centesimal, perfil de aminoácidos, ácidos graxos, nível de compostos tóxicos, antinutrientes e vitaminas) foram obtidos a partir de 36 amostras de sementes descaroadas coletadas em 3 ensaios a campo conduzidos pela Bayer S.A. no Centro-Oeste Brasileiro, região tradicional da cultura do algodão, que representa atualmente mais de 80% da área cultivada no país. As médias de todos os componentes ficaram dentro das faixas de referência do banco de dados composicionais do ILSI (ILSI-CCDB: ILSI, 2014) e do “Consensus Document” da OECD para algodão

(OECD, 2009), incluindo os componentes nutricionais e antinutricionais que apresentaram diferença estatística significativa entre o algodão convencional e o algodão GLTC (ferro, gossipol livre e total, ácidos estercúlico e dihidroestercúlico, e os ácidos graxos palmítico, esteárico, oléico e linoléico. Apenas o aminoácido metionina apresentou médias de todos os tratamentos acima das faixas de referência. Entretanto, este aminoácido não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos com o algodão convencional e o algodão GLTC. Estes resultados indicam que o algodão GLTC é substancialmente equivalente à linhagem convencional não modificada, sendo tão seguro nutricionalmente quanto às variedades comerciais existentes no mercado.

A proponente menciona que os resultados para os Eventos parentais GHB614 e T304-40 x GHB119 dos estudos de desempenho animal alimentados com organismo geneticamente modificado, foram apresentados para a CTNBio e se encontram aprovados no Brasil e vários outros países. Com relação ao Evento COT102, um estudo de toxicidade oral aguda da proteína VIP3A em aves (codorna *Colinus virginianus*) foi conduzido durante 14 dias, de acordo com a diretriz US EPA Guideline n°. 71-1 (PEDERSEN, 1999). Nenhuma mortalidade ocorreu durante o estudo, não houve sinais clínicos de toxicidade observados para qualquer uma das aves durante o estudo e nenhuma mudança significativa no peso corporal foi detectada em qualquer um dos intervalos de pesagem (aos 3, 7 ou 14 dias após a ingestão).

BRAKE et al. (2005) realizou um estudo de alimentação de 49 dias para avaliar se frangos de corte alimentados com uma dieta contendo milho GM expressando proteínas VIP3A teriam algum efeito adverso sobre os animais machos ou fêmeas comparados à uma dieta utilizando milho convencional. Os resultados indicaram que a dieta com milho transgênico não teve qualquer efeito deletério sobre o desempenho dos frangos e na produção de carcaça. A proponente comenta ainda que foram realizados quatro estudos separados de toxicidade oral aguda em roedores alimentados com preparados da proteína VIP3A. Três desses estudos foram conduzidos com proteínas VIP3A produzidas a partir de expressão heteróloga em microrganismos e um deles foi conduzido com extratos foliares enriquecidos para proteína VIP3A de plantas de milho VIP3A. Não foram observados efeitos adversos relacionados aos tratamentos em nenhum dos estudos, e a proteína VIP3A pôde ser considerada como não tóxica. No caso das proteínas PAT e 2mEPSPS já existem publicações em artigos científicos descrevendo todos os estudos sobre a segurança destes polipeptídeos, inclusive as avaliações de toxicologia aguda, conforme HEROUET et al., 2005 e HEROUET et al., 2009. Segundo SJOBLAD et al., 1992, as proteínas tóxicas são reconhecidas por agir via mecanismos agudos e mesmo em doses muito baixas. Portanto, quando uma proteína demonstra ausência de toxicidade oral aguda em altas doses, demonstra que o produto não será tóxico a animais e não apresentará perigo sob qualquer nível realístico de exposição. Os estudos de toxicidade oral aguda utilizando camundongo albino como animal indicador são considerados suficientes para avaliar o potencial de toxicidade de proteínas. Segundo o relatório da U.S. EPA (U.S.EPA, 2004), a ausência de toxicidade oral aguda nesses casos, associada ao modo de ação da proteína e a falta de homologia estrutural com toxinas, alérgenos e proteínas que possuam toxicidade de longo prazo, indicam que outros testes (agudos e não agudos, reprodutivos, teratogênicos, carcinogênicos, etc) não seriam necessários.

Foi apresentado pela proponente neste documento, bem como em citações de dados já avaliados pela CTNBio, que as proteínas expressas no algodão GLTC, ou seja a PAT, 2mEPSPS, Cry1Ab, Cry2Ae, VIP3A e APH4, são prontamente degradadas quando submetidas às condições que simulam o sistema gastro-intestinal, como qualquer proteína de uma dieta convencional.

Informações sobre a homologia das proteínas PAT, 2mEPSPS, Cry1Ab, Cry2Ae já foram amplamente apresentadas e analisadas pela CTNBio quando da submissão dos Eventos isolados GlyTol e TwinLink e do combinado GlyTol x TwinLink (parental do GLTC), sendo demonstrado, segundo a Proponente, que estes peptídeos não apresentam nenhuma homologia com compostos tóxicos ou alergênicos, bem como também nenhuma homologia com epitopos e sítios de glicosilação. Um estudo independente (BATISTA

et al., 2005) também avaliou o potencial de alergenicidade de 5 Eventos de transformação que contem as proteínas Cry1Ab, PAT, CP4-EPSPS, através do teste cutâneo (skin prick test) e reatividade a IgE. Nenhum dos indivíduos expostos a tais testes reagiram diferentemente às amostras GM e convencionais, ou apresentaram quantidades detectáveis de anti-corpos IgE para as proteínas-alvo, corroborando os dados de segurança de tais proteínas. Foi feita também uma busca para determinar se a proteína VIP3A apresenta homologia à qualquer outro grupo de proteínas ou toxinas conhecido. Em todas as buscas, VIP3A não demonstrou homologia significativa com qualquer proteína que não seja da família VIP3A no banco de dados do GenBank, incluindo outras proteínas de Bt e proteínas reconhecidas como toxinas. Assim como para VIP3A, foram realizadas para APH4 as mesmas abordagens de busca e não se identificou nenhuma homologia com proteínas previamente identificadas como toxinas ou alérgenos na base de dados do GenBank.

Os resultados em todos os casos indicam que o algodão GLTC é substancialmente equivalente às outras variedades de algodão e o DNA inserido bem como as proteínas expressas não oferecem nenhum risco significativo a saúde humana/animal comparativamente a utilização do algodão convencional e seus subprodutos na alimentação. Existem outras culturas com a característica de tolerância a insetos e tolerantes a herbicidas que produzem as mesmas proteínas sendo cultivadas há vários anos em vários países, sem qualquer relato de alergia ou toxicidade aos mais diversos organismos.

Frente aos dados apresentados, conclui-se que:

1. Os produtos alimentícios derivados de algodão (óleo de semente de algodão refinado e fibras celulósicas de línter) são altamente processados e essencialmente livres de quaisquer proteínas. Assim, como esperado, não foi detectado rastros da proteína VIP3A em óleo refinado ou em fibras de algodão produzidas por plantas derivadas do evento COT102 em estudos internos realizados pela Syngenta (Dossiê para aprovação comercial do Evento COT102 submetido ao USDA “Application for the Determination of Non-Regulated Status for Lepidopteran Insect Protected VIP3A Cotton Transformation Event COT102”, Syngenta, USA, 217p. 2003 - https://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/03_15501p.pdf Acesso em 04/03/2017). Portanto, não é esperado que haja exposição de proteínas heterólogas na dieta humana ou animal através da ingestão de subprodutos do algodão GLTC;
2. Os dados moleculares indicaram que os insertos presentes no algodão GLTC referem-se unicamente aos componentes genéticos esperados e que as inserções não resultaram em deleções ou expressões de novos genes que possam causar efeitos negativos à saúde;
3. Dados de composição química/nutricional (análise centesimal, perfil de aminoácidos, ácidos graxos, nível de compostos tóxicos, antinutrientes e vitaminas) foram obtidos a partir de 36 amostras de sementes descaroadas coletadas em 3 ensaios a campo conduzidos pela Bayer S.A. no Centro-Oeste Brasileiro, região tradicional da cultura do algodão, que representa atualmente mais de 80% da área cultivada no país. As médias de todos os componentes ficaram dentro das faixas de referência do banco de dados composicionais do ILSI (ILSI-CCDB: ILSI, 2014) e do “Consensus Document” da OECD para algodão (OECD, 2009), incluindo os componentes nutricionais e antinutricionais que apresentaram diferença estatística significativa entre o algodão convencional e o algodão GLTC (ferro, gossipol livre e total, ácidos estercúlico e dihidroestercúlico, e os ácidos graxos palmítico, esteárico, oléico e linoleico). Apenas o aminoácido metionina apresentou médias de todos os tratamentos acima das faixas de referência. Entretanto, este aminoácido não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos com o algodão convencional e o algodão GLTC. Estes resultados indicam que o algodão GLTC é substancialmente equivalente à linhagem convencional não modificada, sendo tão seguro nutricionalmente quanto às variedades comerciais existentes no mercado;
4. Análises *in silico* demonstram que as proteínas Cry1Ab, Cry2Ae, VIP3Aa19, 2mEPSPS, e APH4 expressas no algodão GLTC não apresentam homologia a qualquer alérgeno ou toxina conhecidos

ou putativos depositados em bancos de dados públicos;

5. Dados de revisão da literatura e dos estudos experimentais apresentados, indicam rápida degradação das proteínas Cry1Ab, Cry2Ae, EPSPS, PAT, VIP3A e APH4 nos fluidos gástricos e intestinais dos animais avaliados, demonstrando segurança para os animais e humanos equivalente ao algodão convencional. Além disso, não existem dados na literatura que associe estas proteínas com potencial teratogênico.

Os resultados, em conjunto, indicam que o algodão GLTC é substancialmente equivalente às outras variedades de algodão e o DNA inserido bem como as proteínas expressas não oferecem nenhum risco significativo a saúde humana/animal comparativamente à utilização do algodão convencional e seus subprodutos na alimentação. Existem outras culturas com a característica de tolerância a insetos e tolerantes a herbicidas que produzem as mesmas proteínas expressas pelo algodão GLTC e que sendo cultivadas há anos em vários países, sem qualquer relato de alergia ou toxicidade aos mais diversos organismos.

V. Avaliação de Risco ao Meio Ambiente

A proponente aportou dados oriundos de literatura, bem como de resultados de ensaios realizados no Brasil para dar suporte à avaliação do risco ao meio ambiente quanto ao uso do algodão GM GLTC. Informações e dados quanto a origem e histórico do gênero *Gossypium*, centro de origem e diversidade da espécie, cruzamentos com espécies selvagens, transferência horizontal, capacidade de propagação, reprodução e sobrevivência do OGM, efeitos sobre a artropodofauna e organismos alvo e não-alvo, biodegradabilidade da biomassa e avaliações agrônômicas/fenotípicas, foram apresentados e estão descritos abaixo de forma resumida. O conjunto de informações disponibilizadas permitem concluir que o algodão geneticamente modificado, evento combinado GLTC, é substancialmente equivalente às outras variedades de algodão e os genes inseridos, bem como as proteínas expressas, não oferecem nenhum risco significativo ao meio ambiente comparativamente a utilização do algodão convencional e seus subprodutos sob as condições de cultivo agrícola tradicionalmente estabelecidas.

Segundo dados da CONAB (2017), a estimativa de plantio de algodão na safra 2016/17 é de aproximadamente 911,7 mil hectares, 4,5% abaixo da safra anterior, tendo o Estado de MT e BA como os maiores produtores do Brasil, com 600,8 mil e 235,2 mil hectares plantados, respectivamente, representando, os dois Estados, 87,6% da área plantada no país e 87,9% da produção. O Brasil tem posição de destaque como um dos cinco maiores produtores mundiais de algodão em caroço, na ordem: Índia, China, Estados Unidos, Paquistão e Brasil

O gênero *Gossypium* é constituído de 52 espécies distribuídas nos continentes: Ásia, África, Austrália e América, sendo que destas apenas 4 são cultivadas. O *Gossypium arboreum* L., cultivado na Índia, ainda é importante comercialmente e o *Gossypium herbaceum* L., que já teve maior importância no passado, atualmente é plantado apenas em algumas regiões secas da África e Ásia. Finalmente, cerca de 90% da produção mundial de algodão é de variedades de *Gossypium hirsutum* L. e 8% de *Gossypium barbadense* L. (LEE, 1984). SAUNDERS (1961) propõe que o centro de origem do gênero *Gossypium* é a África Central, pois quatro dos sete grupos genômicos diploides são provenientes dessa região. A espécie silvestre *Gossypium herbaceum* var *africanum* habita no meio de arbustos ao Sul da África e entre as savanas ao Norte (HUTCHINSON et al., 1947). Esta espécie, segundo FRYXELL (1979), é a forma silvestre da qual surgiram as espécies domesticadas.

O Brasil é considerado como centro de origem da espécie *G. mustelinum* e importante centro de diversidade das espécies *G. barbadense* e *G. hirsutum* raça *marie galante* (“algodoeiro mocó”), sendo que não foram observadas variedades diploides para estas espécies no Brasil. Segundo FREIRE et al. (1990) o *G. mustelinum*, a única espécie selvagem genuinamente brasileira, nunca foi utilizada para fins de melhoramento ou exploração comercial, apesar de evidências da introgressão de alelos de *G. hirsutum* no

seu genoma (WENDEL et al., 1994). O seu centro de origem é o Nordeste, onde ainda podem-se encontrar populações selvagens nos municípios de Caiacó - RN, Macurerê - BA e Caraíba - BA (FREIRE, 2000). A espécie *G. barbadense* L. têm ampla distribuição, na sua forma silvestre ou subespontânea, desde a bacia amazônica até as matas tropicais do Rio Grande do Norte ao Espírito Santo, nas margens do Pantanal, nos cerrados do Centro Oeste (MT, MS, GO) e nas terras baixas do semi-árido do Maranhão e Piauí. Duas variedades podem ser encontradas: *G. barbadense* var. *barbadense* e o *G. barbadense* var. *brasiliense* (“Rim-de-Boi”), presentes em aldeias indígenas e fundos de quintais. É provável que a variedade *barbadense* foi introduzida das ilhas do Caribe, enquanto a *brasiliense* seria oriunda da floresta amazônica.

No Brasil, “Zonas de Exclusão de algodoeiros transgênicos para preservação de espécies de *Gossypium* nativas ou naturalizadas” foram estabelecidas no Comunicado 242 da Embrapa Algodão e Portaria MAPA nº. 21/2005. Essas zonas de exclusão de plantio de algodão geneticamente modificado contemplam os locais onde ocorrem e estão distribuídas populações ferais de *G. hirsutum* r. *marie galante* (“algodoeiro mocó”) e *G. mustelinum*. Os riscos eventuais e potenciais ao meio ambiente, foram consideradas e analisadas questões relativas à distribuição de forma silvestre de *G. mustelinum*, endêmica, no sul do Rio Grande do Norte e no nordeste baiano, ou sub-espontâneas da espécie *G. barbadense* L., em toda região Amazônica, no Pantanal, no sudeste do Piauí e oeste de Pernambuco, e na Mata Atlântica, compreendendo os estados RN, PB, AL, SE, BA, MG e ES, em área equivalente ao cerrado brasileiro. Segundo FREIRE (2000), a possibilidade de fluxo gênico entre o algodão GM e os algodoeiros silvestres é remota devido ao isolamento da distribuição espacial (zoneamento agrícola) previsto para os cultivos comerciais (distribuídos nas lavouras de alta tecnologia do cerrado) em áreas reconhecidamente isentas de tipos silvestres. Adicionalmente, nenhuma alteração bioquímica / fisiológica que influencie na capacidade de sobrevivência natural das plantas no ambiente foi detectada nos estudos realizados pela Requerente nas Liberações Planejadas no Meio Ambiente.

A dispersão do algodão é feita pelo plantio das sementes, que depende da polinização cruzada entre flores de diferentes plantas para que haja a transferência e troca da carga genética entre os indivíduos. Todas as espécies de *Gossypium* têm flores completas, autocompatíveis e susceptíveis de polinização cruzada. A flor de algodão permanece aberta durante apenas um dia, e a dispersão do pólen inicia-se logo após a abertura da flor, durante o início da manhã. A fecundação pode acontecer até 30 horas depois da polinização (FREE, 1993, citado por FREIRE et al. 2003). O pólen se mantém viável por cerca de 12 a 24 horas, dependendo das condições de conservação, porém após 9 horas a viabilidade já começa a diminuir. A proponente citou vários trabalhos independentes que mostraram que dentro de uma lavoura de algodão, a taxa de polinização cruzada é muito variável dependendo da época, região e presença de insetos polinizadores, mas todos indicaram que fluxo gênico decresce exponencialmente à medida que aumenta a distância entre plantas (doadoras e receptoras). Afirma ainda que não é esperado que a combinação dos Eventos GlyTol x TwinLink e COT102 através do melhoramento genético clássico resulte em qualquer alteração na frequência com que ocorre o cruzamento do organismo parental do OGM, seja dentro da mesma espécie e/ou com espécies sexualmente compatíveis, do que já é observado para as variedades comerciais da espécie.

No caso das características de seletividade a herbicidas e autodefesa contra lepidópteros, estas não devem ser consideradas como fatores de seleção fundamentais que permitam uma vantagem adaptativa do OGM em relação às outras variedades. Os estudos realizados a campo demonstraram que a presença dos genes *cry1Ab*, *cry2Ae*, *bar*, *2mepsps*, *vip3A(a)19* e *aph4* no algodão GlyTol x TwinLink x COT102, não alterou significativamente nenhuma característica fenotípica, ou tornou o OGM mais invasivo do que as linhagens convencionais. Adicionalmente, nenhuma alteração bioquímica / fisiológica que influencie na capacidade de sobrevivência natural das plantas no ambiente foi detectada nos estudos realizados pela Requerente sob Liberação Planejada no Meio Ambiente. Pela regularidade de ocorrência dos estádios fenológicos ao longo do ciclo e similaridade dos parâmetros de crescimento, desenvolvimento e

caracteres fenotípicos entre as linhagens geneticamente modificadas (OGM) e a cultivar não modificada correspondente, observados nos ensaios a campo, pode-se assegurar que os atributos que garantem a seletividade aos herbicidas ou a defesa contra pragas lepidópteras não estão relacionados com qualquer alteração em rotas metabólicas, aspectos morfológicos ou na fenologia do algodoeiro, não havendo, conseqüentemente, qualquer característica adicional que poderia regular a sobrevivência do OGM no ambiente.

Não se vislumbra nenhuma forma de cultivo ou utilização dos produtos e subprodutos do algodoeiro geneticamente modificado que seja diferente daquelas já tradicionais do algodão convencional, ou mesmo, dos outros Eventos já aprovados pela CTNBio (LLCotton25, GlyTol, TwinLink, GlyTol x TwinLink, Widestrike, MON531, MON1445, MON15985, entre outros).

No que diz respeito a estudos realizados para se avaliar os efeitos de plantas Bt sobre espécies de predadores e parasitóides em condições controladas (laboratório e casa de vegetação), duas conclusões gerais podem ser tiradas: 1) não há indicação do efeito direto de plantas Bt sobre inimigos naturais, seja em ensaios com alimentação sobre partes de plantas ou quando os mesmos são alimentados com presas não suscetíveis às proteínas Cry, e 2) o efeito adverso tem sido observado somente em estudos com herbívoros suscetíveis. Estes efeitos provavelmente se dão pela redução na qualidade do alimento (presas) e não pelo efeito direto da planta (ROMEIS et al., 2006; NARANJO et al., 2005). As plantas geneticamente modificadas, além de poderem contribuir de maneira significativa para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) têm sido consideradas seguras para a entomofauna, visto que estudos têm demonstrado que essas plantas não têm apresentado efeito para insetos não alvos (MARSARO Jr, 2005; ILSI, 2012). SIMON et al. (2006) estudaram o efeito das proteínas Cry1Ac, Cry1Ab e Cry2Ab sobre o predador *Chrysoperla carnea*. Os resultados encontrados permitiram concluir que as proteínas Cry testadas, mesmo em concentrações superiores àquelas encontradas nas condições reais, não apresentaram efeitos prejudiciais sobre o predador, quer seja pela ingestão da presa ou por via direta.

A proponente apresentou os resultados de uma extensa avaliação feita em ensaios conduzidos no Brasil para avaliar o efeito que a combinação das proteínas inseticidas Cry1Ab, Cry2Ae e Vip3A(a)19 presentes no algodão combinado GLTC teria sobre pragas-alvo e organismos não-alvo em condições de campo. Foram realizadas avaliações comparativas da incidência e abundância de artrópodes alvo e não-alvo em cultivos de algodão geneticamente modificado e da linhagem convencional não modificada, em três áreas representativas do cultivo do algodão no Brasil. No que tange o efeito sobre artrópodes não-alvo, o algodão GLTC foi considerado seguro, uma vez que não foi observado nenhum efeito sobre populações de artrópodes não-alvo presentes na parte aérea e camada epigea dos algodões cultivados em MT e BA. Houve redução da incidência do parasitóide da família Braconidae no algodão GM, mas foi correlacionado ao controle das pragas-alvo (redução de hospedeiros), corroborando com estudos prévios. Os padrões de comunidade de artrópodes não-alvo entre o algodão GM e não GM, sob as diferentes condições de infestação de pragas, refletiram elevada similaridade (acima dos 90%) na ocorrência dos táxons encontrados nos ensaios. Após todas as avaliações, os resultados sugerem que, nas condições experimentais em que os estudos foram conduzidos, o algodão GM evento GLTC reduziu significativamente a população dos lepidópteros-pragas *A. argillacea*, *S. frugiperda*, *S. cosmioides*, *S. eridania*, *C. includens* e espécies do complexo Heliiothinae (*H. armigera* e *H. zea*), sem efeitos adversos aos organismos não-alvo.

Resultados de ensaios locais foram apresentados também pela proponente para avaliar a capacidade de biodegradabilidade da biomassa oriunda de plantas GM. Os dados obtidos neste estudo indicam que o processo de obtenção do evento GLTC, com a inserção dos genes *cry1Ab*, *cry2Ae*, *2mEPSPS*, *pat*, *vip3Aa19* e *aph4*, não interferiu na degradabilidade da biomassa por microrganismos decompositores presentes no solo quando comparada com a linhagem convencional. O presente estudo não evidenciou nenhuma diferença estatística significativa entre os genótipos quanto a biodegradação dos diferentes órgãos vegetais (folha, caule e raiz) em diferentes épocas de avaliação.

Quando se trata de plantas geneticamente modificadas, um dos receios é de que os genes inseridos possam ser transferidos para outras espécies e causar algum dano, particularmente aos microrganismos de solo ou do trato digestivo de humanos e animais (DROGE et al., 1998). Entretanto, vários estudos realizados com esta finalidade não foram capazes de demonstrar a ocorrência de transferência de genes por fluxo horizontal entre plantas GM e bactérias em condições naturais (BERTOLLA e SIMONET, 1999; GEBHARD e SMALLA, 1999; NIELSEN et al., 1998). Em ensaios nas condições ambientais e com solo não-estéril não foi possível demonstrar a ocorrência de transferência horizontal entre plantas e microrganismos, o que sugere que a própria condição dos solos inibe a transformação (THOMSON, 2001).

Em 2007, uma revisão dos dados dos 10 anos anteriores dos experimentos a campo em áreas de pesquisa e de cultivo comercial a nível global, com foco nas culturas geneticamente modificadas já aprovadas para uso comercial e de relevante importância para a agricultura na Europa central e oeste (por exemplo: milho, canola e soja) e ainda, considerando as características principais de tolerância a herbicidas e resistência a insetos, mostrou que os dados disponíveis até aquele momento não mostravam nenhuma evidência científica que o cultivo das culturas GM avaliadas causaram danos ao meio ambiente (SANVIDO et al., 2007). Esta conclusão não foi alterada até hoje.

O uso de estudos agrônômicos e de composição tem sido defendido pelas agências de regulamentação, uma vez que tais estudos podem demonstrar se a planta geneticamente modificada é substancialmente equivalente à convencional (CODEX, 2003). Os dados apresentados na presente solicitação indicam que o algodão GLTC é substancialmente equivalente à linhagem convencional não modificada, sendo tão seguro nutricionalmente quanto às variedades comerciais existentes no mercado e, portanto, não causará nenhum impacto na nutrição animal. Ao analisar os valores de todos os nutrientes e antinutrientes das plantas GM, observa-se que eles se encontram dentro da faixa de referência de valores descrita na literatura para as variedades comerciais da espécie.

No Brasil já existem outras cultivares de algodão geneticamente modificado com a característica de tolerância a herbicidas e insetos pragas sendo cultivadas comercialmente em milhares de hectares e, até o momento, estas tecnologias têm se mostrado eficientes, sem qualquer referência de efeitos adversos comprovados, quando comparado ao cultivo das variedades convencionais. Segundo um levantamento da Comissão Européia (EUROPEAN COMMISSION, 2010), a principal conclusão que se pode alcançar a partir do estudo de mais de 130 projetos de pesquisa que cobrem um período de mais de 25 anos de estudos com mais de 500 grupos de pesquisadores independentes, é que a biotecnologia, em particular os OGMs, não é, *per se*, mais perigosa que as tecnologias de melhoramento genético convencional. Em uma extensa revisão das publicações científicas que tratam de análise de risco do uso de produtos geneticamente modificados, LEMAUX (2009) conclui que embora nenhuma atividade humana possa garantir 100% de segurança, as cultivares geneticamente modificadas e seus produtos disponíveis atualmente para a comercialização são tão seguros quanto àqueles oriundos de métodos convencionais.

VI - Parecer

Considerando:

- 1) Que o algodão é plantado comercialmente no Brasil desde meados do século XVIII, sem relatos de danos ao homem, aos animais e ao meio ambiente;
- 2) Que durante três séculos, não apresentou até hoje característica de planta daninha;
- 3) Que há no Brasil um zoneamento para o plantio de algodão e zonas de exclusão de algodoeiros transgênicos para preservação de espécies de *Gossypium* nativas ou naturalizadas;

- 4) Que os genes inseridos se integraram em um único local do genoma da planta, e que as características conferidas pelos mesmos se mostraram estável ao longo de gerações e a segregação é mendeliana;
- 5) Que os estudos realizados no Brasil e Estados Unidos, demonstraram que o algodão GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102 (GLTC) não difere do algodão convencional em características agrônomicas, morfológicas, reprodutivas, nas características de sobrevivência e na forma de disseminação das plantas, com exceção apenas das características de tolerância aos herbicidas glifosato e glufosinato e resistência a insetos da ordem Lepidoptera, conferidas pela presença e expressão dos genes *2mepsps* e *bar* (tolerância aos inseticidas) e dos genes *cry1Ab*, *cry2Ae* e *vip3A(a)19* (resistência a lepidópteros pragas da cultura)
- 6) Que as análises de composição química, realizadas em liberações planejadas em diferentes locais do Brasil, mostraram que o algodão GLTC é substancialmente equivalente ao algodão convencional;
- 7) Que as proteínas 2mEPSPS, PAT, Cry1Ab, Cry2Ae e VIP3A(a)19 produzidas pelo algodão GM não apresentam qualquer efeito tóxico ou alergênico;
- 8) Que este evento representa uma ferramenta adicional que os agricultores podem usar para manejar as populações de ervas daninhas e lepidópteros praga do algodão;
- 9) As análises de biossegurança do algodão GLTC já realizadas pelos órgãos de regulamentação dos países onde o mesmo já foi analisado e aprovado;
- 10) As informações atualmente disponíveis na literatura científica.

Conclui-se que algodão GLTC é tão seguro quanto seu equivalente convencional. Assim, manifesto-me pelo **Deferimento** da solicitação de liberação comercial deste evento.

VII - Restrições ao uso do OGM e seus derivados

Conforme estabelecido no art. 1º da Lei 11.460, de 21 de março de 2007, “*ficam vedados a pesquisa e o cultivo de organismos geneticamente modificados nas terras indígenas e áreas de unidades de conservação*”.

Não há diferença entre a performance agrônômica das plantas transgênicas e convencionais, bem como como há equivalência substancial entre as mesmas. Assim, as informações indicam que as plantas transgênicas não diferem fundamentalmente dos genótipos de algodão não transformado, com exceção da tolerância aos herbicidas glifosato e glufosinato e resistência a insetos da ordem Lepidoptera. Não há também evidência de reações adversas ao uso do algodão GLTC. Por essa razão, não existem restrições ao uso deste algodão GM ou de seus derivados, seja para alimentação humana ou de animais.

Não há riscos adicionais para o meio ambiente com o plantio do algodão GLTC além daqueles já ocasionados pelas diferentes variedades de algodão convencional em uso no país.

VIII - Considerações sobre particularidades das diferentes regiões do País (subsídios aos órgãos de fiscalização)

Conforme estabelecido no art. 1º da Lei 11.460, de 21 de março de 2007, “*ficam vedados a pesquisa e o cultivo de organismos geneticamente modificados nas terras indígenas e áreas de unidades de conservação*”, bem como as diretrizes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para a

zona de exclusão de cultivos de algodoeiros geneticamente modificados.

IX - Conclusão

Diante do exposto e considerando os critérios internacionalmente aceitos no processo de análise de risco de matérias-primas geneticamente modificadas é possível concluir que o algodão GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102 (GLTC), contendo os eventos GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102, é tão seguro quanto seus equivalentes convencionais. Os dados apresentados na solicitação atendem às normas e às legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal, e permitem concluir que o algodão GLTC é substancialmente equivalente ao algodão convencional, sendo seu consumo seguro para a saúde humana e animal. No tocante ao meio ambiente, pode-se concluir que este algodão GM não é potencialmente causador de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica à do algodão convencional.

X- Monitoramento

Com relação ao plano de monitoramento pós-liberação comercial, determina-se que sejam seguidas as instruções e executadas as ações técnicas de monitoramento constantes na Resolução Normativa 09 da CTNBio, de 02 de dezembro de 2011.

Assim, de acordo com o Art. 3º. da Resolução Normativa 09, “A requerente deverá submeter o plano de monitoramento pós-liberação comercial, ou solicitar sua isenção, no prazo de 30 (trinta) dias, contados a partir da publicação do deferimento do pedido de liberação comercial do OGM, em consonância com a avaliação de risco da CTNBio, bem como com o parecer contido na sua decisão técnica”.

O plano deverá conter, necessariamente, o tamanho da amostra, as regiões a serem abrangidas, a periodicidade da coleta das informações e das demais ações e a metodologia a ser utilizada.

XI - Referências Bibliográficas

ABDELKEFI-MESRATI, L.; BOUKEDI, H.; DAMMAK-KARRAY, M.; SELLAMI-BOUDAWARA, T.; JAOUA, S.; TOUNSI, S. Study of the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16 histopathological effects and determination of its putative binding proteins in the midgut of *Spodoptera littoralis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.106, p.250-254, 2011.

ALYOKHIN, A. Scant evidence supports EPA's pyramided Bt corn refuge size of 5%. *Nature Biotechnology*, v.29, p.577-578, 2011.

BATISTA, R.; NUNES, B.; CARMO, M.; CARDOSO, C.; JOSÉ, H.S.; ALMEIDA, A.B.; MANIQUE, A.; BENTO, L.; RICARDO, C.P.; OLIVEIRA, M.M. Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *J. Allergy Clin. Immunol.*, v.116, n.2, p.403-410. 2005.

BERGAMASCO, V.B.; MENDES, D.R.P.; FERNANDES, O.A.; DESIDÉRIO, J.A.; LEMOS, M.V.F. *Bacillus thuringiensis* CryIIa10 and Vip3Aa protein interactions and their toxicity in *Spodoptera* spp. (Lepidoptera). *Journal of Invertebrate Pathology*, v.112, p.152-158, 2013.

- BERTOLLA, F., SIMONET, P. Horizontal gene transfers in the environment: natural transformation as a putative process for gene transfers between transgenic plants and microorganisms. *Research in Microbiology*. V.150, p.375-384, 1999.
- BOERBOOM, C., OWEN M. 2006. Facts about Glyphosate-Resistant Weeds. The Glyphosate, Weeds, and Crop Series. GWC-1. Purdue University.
- BRAKE, J., FAUST, M., STEIN, J. Evaluation of transgenic hybrid corn (VIP3A) in broiler chickens. *Poultry Science*, n. 84, p.503-512, 2005
- CODEX. Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant DNA plants. CAC/GL:45. 2003.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252>. Acesso em 04/03/2017
- EC (European Commission). 2010. A Decade of EU-funded GMO Research (2001–2010). Brussels: European Commission.
- ESTRUCH, J.J.; WARREN, G.W.; MULLINS, M.A.; NYE, G.J.; CRAIG, J.A.; KOZIEL, M.G. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v.93, p.5389-5394, 1996.
- EVANS, J.A., TRANEL, P.J., HAGER, A.G., SCHUTTE, B., WU, C., CHATHAM, L.A. DAVIS, A.S. Managing the evolution of herbicide resistance. *Pest. Manag. Sci.*, v.72, p.74–80, 2016.
- FERRÉ, J.; Van RIE, J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.*, v. 47, p.501–533, 2002
- FREIRE, E.C. Distribuição, coleta, uso e preservação das espécies silvestres de algodão no Brasil. Embrapa- CNPA. Documentos, 78. Campina Grande. 22p. 2000
- FREIRE, E.C.; BARROSO, P.A.V.; PENNA, J.C.V.; BORÉM, A. Fluxo gênico. Análise do caso de Algodão no Brasil. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, v.29,p.104-113. 2003.
- FREIRE, E.C.; MOREIRA, J.A.N.; MIRANDA, A.R.; PERCIVAL, A.E. E STEWART, J.M. Identificação de novos sítios de ocorrência de *Gossypium mustelinum* no Brasil. *Pesquisa em Andamento*, 10, 7p. 1990.
- FRYXELL, P.A. The natural history of the cotton tribe. Texas A&M University Press, College station, Texas. 1979
- GEBHARD, F., SMALLA, K. Monitoring field releases of transgenic modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. *FEMS Microbiology Ecology*, v.28, p.261-272, 1999
- HEROUE, C.; ESDAILE, D.J.; MALLYON, B.A.; DEBRUYNE, E.; SCHULZ, A.; CURRIER, T.; HENDRICKX, K.; KLIS, R.J. Van; ROUAN, D. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to Glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, n.41, p.134-149, 2005.
- HEROUE-GUICHENEY, C.; ROUQUIE, D.; FREYSSINET, M.; CURRIER, T.; MARTONE, A.; ZHOU, J.; BATES, E.E.M.; FERULLO, J.M.; HENDRICKX, K. ROUAN, D. Safety evaluation of the

doublé mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) from maize that confers tolerance to glyphosate herbicide in transgenic plants. Reg. Tox.Pharmacology, v.54, p.143-153, 2009

HUTCHINSON, J.B., SILOW, R.A., STEPHENS, S.G. The evolution of *Gossypium* and the differentiation of the cultivated cottons. Oxford University Press, Oxford, UK, 1947.

ILSI Research Foundation. *A Review of the Environmental Safety of Vip3Aa*. Center for Environmental Risk Assessment, USA, 2012.

ILSI-CCDB: ILSI, 2014. International Life Sciences Institute Crop Composition Database, Versão 5.0. Disponível em: <www.cropcomposition.org>. Acesso em: 21 de Novembro de 2014 e 25 de Novembro de 2014.

LEBRUN M., SAILLAND A., Freyssinet G. Mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene encoding for said protein and transformed plants containing said gene. International patent publication W0 97/04103-A2. 06.02.97, p.25, 1997.

LEE, J.A Cotton as a world crop. In: RHOEL, R.J.; LEWIS, C.F. (eds). Cotton. Madison: American Society of Agronomy p.1-16. 1984.

LEE, M K., WALTERS, F. S., HART, H., PALEKAR, N., CHEN, J.-S. The mode of action of the *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A differs from that of Cry IAb & endotoxin. Applied and Environmental Microbiology, v.69, n.,8, p. 4648-4657. 2003

LEMAUX, P.G. Genetically Engineered plants and foods: a scientist's analysis of the issues (part II). Annu. Rev. Plant Biol. V.60, p.511-559, 2009.

MARSARO Jr, A.L. Efeitos do milho Bt sobre a entomofauna. Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais. V.3, n.1.p.19-25, 2005.

NARANJO, S.E.; HEAD, G.; DIVELY, G.P. Field studies assessing arthropod nontarget effects in Bt transgenic crops: Introduction. Environmental Entomology, v.34, p.1178-1180, 2005.

NIELSON, K.M., BONES, A.M., SMALLA, K., VAN ELSAS, J.D. Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria a rare event? Microbiological Reviews, v.22, p.79-103, 1998.

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Cotton (*Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*): Key Food and Feed Nutrients and Anti-Nutrients. Paris: OEDC, 2004 (revisado em 2009). 32 p. (Safety of Novel Foods and Feeds, v.11). 2004.

PEDERSEN, C.A. (1999) Acute Avian Oral Toxicity (LD50) Study with VIP3A-0198 in Bobwhite Quail. Bio-Life® Associates, Ltd. Project No. BLAL 160-001-03. Unpublished report to Novartis Seeds, Inc., dated December 3, 1999, submitted to US

ROMEIS, J.; MEISSLE, M; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. Nature Biotechnology, v.24, p.63-71, 2006.

SANVIDO, O.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercial cultivation. Adv. Biochm Engin/Biotechnol. V.107, p.235-278, 2007

SAUNDERS, J.H. The wild species of *Gossypium* and their evolutionary history. Oxford University, London. 1961.

SIMON, A.R.; MAAGD, R.A.; AVILLA, C.; BAKKER, P.L.; MOLTHOFF, J.; ZAMORA, J.E.G.; FERRE, J. Lack of detrimental effects of *Bacillus thuringiensis* cry toxins on the insect predator *Chrysoperla carnea*: a toxicological, histopathological, and biochemical analysis. *Applied Env. Microbiology*, v.72, n.2, p.1595-1603, 2006.

SJOBLAD, R.D., J.T. MCCLINTOCK AND R. ENGLER. Toxicological Considerations for Protein Components of Biological Pesticide Products. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.* n.15, p. 3-9, 1992

THOMPSON, C.J.; MOVVA RAO, N.; TIZARD, R.; CRAMERI, R.; DAVIES, J.E.; LAUWERES, M. & BOTTERMAN, J. Characterization of the herbicide resistance gene bar from *Streptomyces hygroscopicus*. *The EMBO Journal*, v.6, n.9, p.2519-2523, 1987.

THOMSON, J.A. Horizontal transfer of DNA from GM-crops to bacteria and to mammalian cells. *J. Food Sci.* 66:188-193. 2001

USDA. Cotton: World Markets and Trade. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/cotton.pdf>. Fevereiro 2017. Acesso em 04/05/2017.

U.S.EPA. FIFRA Scientific Advisory Panel Meeting. SAP Report n.2004-05. Product characterization, human health risk, ecological risk, and resistance management for *Bacillus thuringiensis* (Bt) cotton products. U.S. Environmental Protection Agency. 2004.

VROH BI, I., HARVENGT, L., CHANDELIER, A., MERGEAI, G. AND DU JARDIN, P. Improved RAPD amplification of recalcitrant plant DNA by the use of the activated charcoal during DNA extraction - *Plant Breeding* 115, pages 205-206. 1996.

WENDEL, J.F.; ROWLEY, R.; STEWART, J.M. Genetic diversity in and phylogenetic relationships of the Brazilian endemic cotton, *Gossypium mustelinum* (malvaceae). *Plant Systematics and Evolution*, v.192, p.49-59, 1994

NORSWORTHY, J.K., WARD, S.M., SHAW, D.R., LLEWELLYN, R.S., NICHOLS, R.L., WEBSTER, T.M., BRADLEY, K.W., FRISVOLD, G., POWLES, S.B., BURGOS, N.R., WITT, W.W., BARRETT, M.. Reducing the Risks of Herbicide Resistance: Best Management Practices and Recommendations. *Weed Science*, v.60(sp1), p.31-62, 2012.

XUE, J.-L.; CAI, Q.-X.; ZHENG, D.-S.; YUAN, Z.M. The synergistic activity between Cry1Aa and Cry1C from *Bacillus thuringiensis* against *Spodoptera exigua* and *Helicoverpa armigera*. *Letters in Applied Microbiology*, v.40, p.460-465, 2005.

XII – Votos Contrários

Votaram pelo indeferimento da Proposta:

- Isaque Medeiros – Representante do Ministério do Meio Ambiente
- Hur Ben Corrêa da Silva – Representante do Ministério do Desenvolvimento Agrário
- Mohamed Ezz El-Din Mostafa Habib – Especialista em Meio Ambiente
- João Dagoberto dos Santos – Especialista em Agricultura Familiar

Data: 07/03/2017

Edivaldo Domingues Velini

Presidente da CTNBio

Assessor: Gutemberg D. Sousa



Documento assinado eletronicamente por **Edivaldo Domingues Velini, Pesquisador**, em 22/03/2017, às 07:52, conforme art. 3º, III, "b", das Portarias MC nº 89/2014 e MCTIC nº 34/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <http://sei.mc.gov.br/verifica.html> informando o código verificador **1724973** e o código CRC **385FD690**.

Referência: Processo nº 01200.001959/2015-63

SEI nº 1724973