

INFORME GAHSHA

SOLICITANTE: BASF Uruguay S.A.

Nombre: Algodón GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102

Solicitud de liberación para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento para el evento Algodón GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102.

La información surge del dossier presentado por la empresa solicitante en el 2018 y las actualizaciones pertinentes requeridas por este grupo AdHoc, así como también de la bibliografía citada al final de este informe.

Participaron en la elaboración del presente informe evaluadores de las siguientes instituciones: MGAP e Institut Pasteur de Montevideo cuyos curriculum vitae se encuentran disponibles en la Secretaría del Sistema Nacional de Bioseguridad. El grupo GAHCIM evalúa los estudios bioinformáticos presentados por la empresa, y luego este grupo AdHoc realiza las consideraciones pertinentes.

EVALUACIÓN DE LA INOCUIDAD ALIMENTARIA

C2.1 Composición nutricional

En este punto, se considera el estudio presentado por la empresa (M-500982-02-1). Se evaluó la producción de semilla realizada durante el año 2013 en 8 localidades de la zona de producción comercial de algodón de Estados Unidos. El estudio incluyó además cultivos de variedades comerciales, con lo que se contempló la variabilidad natural en las condiciones de la prueba. Se realizó el estudio composicional de semilla, incluyendo los componentes sugeridos por OECD (OECD 2004). Luego del análisis estadístico realizado, el cual considera la variabilidad natural demostrada por los cultivos comerciales, no se identificaron diferencias significativas entre el evento algodón GLTP y su contraparte tradicional para la mayoría de los parámetros evaluados en la semilla. Sin embargo, en el estudio de sitios combinados, se identifican algunas diferencias significativas para los siguientes parámetros: gosispol total, gosispol libre y ácido malválico.

Estas diferencias implican un aumento del contenido de estos antinutrientes en el evento con respecto a su contraparte convencional: 15% para el contenido de gosispol total y ácido málvico y 18% de gosispol libre. Cabe la pena destacar que, si bien se encontraron dichas diferencias significativas, los valores hallados para dichos parámetros cayeron dentro del rango de las variedades comerciales, el cual fue construido para cada parámetro.

El aceite es el sub-producto del algodón que está destinado mayoritariamente a consumo humano. Luego del proceso de refinación de aceite, tanto los niveles de gosispol como ácido malválico disminuyen. En la etapa de neutralización y desodorización, los niveles de ácido malválico y gosispol disminuyen a niveles aceptables para consumo humano (S.M. Ghazani et al; Conceição AA et al).

En cuanto a la alimentación animal, es de considerar que, en general, las raciones no están preparadas exclusivamente con derivados del algodón. Considerando los niveles establecidos en EFSA, 2008 en lo que considera al nivel de Gosispol en semillas, tanto la contraparte como algunas variedades comerciales caerían dentro del rango de no aceptación. Por lo que, de usarse semillas de algodón para alimentación animal, se deben tener en cuenta las mismas consideraciones que se realizan cuando se destinan semillas de algodón para alimentación animal. En el caso que se destinara la torta proveniente de la extracción de aceite, se deberían asegurar que los valores presentes en la misma no superaran los niveles establecidos, tal cual se considera este alimento destinado a la producción animal. De todas formas, el proceso de extracción asegura una disminución en los niveles de gosispol (EFSA, 2008 y S.M. Ghazani et al).

En el informe EFSA 2008 se realiza un estudio del contenido de gospol en animales destinados a alimentación humana. Considerando dicho estudio, el gospol presente en dichos alimentos no representa un riesgo para la alimentación humana.

C2 EVALUACIÓN DE LA INOCUIDAD ALIMENTARIA

C2.2 Alergenicidad (Ing. Alim. MSc. Natalie Merlinski (MGAP))

El análisis realizado en este informe se focalizó principalmente en el estudio del evento COT102 (proteínas Vip 3Aa19, APH4), considerando que los demás eventos individuales del evento apilado en estudio ya fueron evaluados por EFSA (EFSA GMO Panel, 2018) y aprobados por la Comisión Europea.

C2.2.1 Historia de la alergenidad de la especie dadora y receptora

Las proteínas Vip 3Aa19 y APH4 provienen de las fuentes bacterianas *Bacillus thuringiensis* y *E. coli* cepa K12 respectivamente. La especie dadora *Bacillus thuringiensis* no posee historia de alergenidad y se encuentra en organismos vegetales genéticamente modificados aprobados en Uruguay (EFSA, 2023; Gabinete Nacional de Bioseguridad (Uruguay), 2022). Respecto a *E. coli* cepa K12, si bien la bacteria *E. coli* tiene algún antecedente como fuente de alergenidad (Esc c asparaginasa y Esc c Beta GAL) (Allergome - Mari, 2006), en particular la cepa *E. coli* K12 tiene su genoma secuenciado y se encuentra disponible públicamente (EFSA CEP Panel, 2021), por lo cual no se considera motivo de preocupación respecto a su potencial alérgico.

En lo que respecta al dador *Zea Mays*, al revisar las bases de datos Allergen Online, 2021 (Goodman R.E., 2016), WHO-IUIS, 2022 (Marsh D.G, 1986), Compare, 2022 (Van Ree, 2021) y SDAP, 2022 (Ivanciuc, 2003) se encontraron antecedentes de alergenidad para algunas de sus proteínas, como ser el Zea m 8 (quitinasa clase IV) y Zea m 14 (proteína de transferencia de lípidos). Sin embargo, a nivel global no se considera una fuente alérgica común (Codex Alimentarius, 2020; Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act, 2004; Food Allergy Safety, Treatment, Education, and Research Act, 2021; OECD, 2002; Reglamento UE 1169/2011.). En lo que respecta a la especie receptora (*Gossypium hirsutum* y *Gossypium barbadense*), aunque se han registrado publicaciones disponibles sobre alergias alimentarias a productos derivados de la semilla del algodón, no se considera un alimento comúnmente alérgico (OECD, 2009; EFSA GMO Panel, 2021). No se encontraron alérgenos del algodón reportados en ninguna de las bases de datos consultadas (bases de datos: Allergen Online, 2021 – Goodman R.E., 2016; WHO-IUIS, 2022 – Marsh D.G, 1986; Compare, 22 – Van Ree, 2021; SDAP, 2022 – Ivanciuc, 2003).

C2.2.2 Evaluación de la alergenidad de la/s nuevas proteína/s expresadas por el/los genes introducidos.

C2.2.2.1 Indicar la historia de alergenidad de las proteínas y la similitud de las mismas con alérgenos conocidos (análisis bioinformático para comparar con base de datos de alérgenos conocidos, considerar también estructura espacial si es necesario).

Las nuevas proteínas no poseen historia de alergenidad (EFSA GMO Panel, 2018; EFSA GMO Panel, 2021). Se revisaron varias bases de datos de alérgenos para las proteínas Vip 3Aa19 y APH4, sin encontrar antecedentes de alergenidad (bases de datos: Allergen Online, 2021 – Goodman R.E., 2016; WHO-IUIS, 2022 – Marsh D.G, 1986; Compare, 22 – Van Ree, 2021; SDAP, 2022 – Ivanciuc, 2003). Se destaca además que la proteína Vip 3Aa19 difiere solamente en un aminoácido de la Vip3Aa20 (tiene metionina en lugar de isoleucina en la posición 129) (EPA, 2007; FAO GM Food Platform) que ya fue evaluada en otros eventos aprobados en Uruguay y otros países (Gabinete Nacional de Bioseguridad, 2021); EFSA GMO Panel, 2019).

La similitud con alérgenos conocidos se evaluó a través de estudios bioinformáticos, que revisó el grupo GAHCIM. Los mismos se realizaron utilizando la base de datos COMPARE y los criterios del Codex Alimentarius (2003): identidad mayor a 35% en segmentos mayores o iguales a 80 aminoácidos e identidad del 100% de ventana móvil de 8 aminoácidos. COMPARE es una base de datos disponible públicamente,

creada por HESI, que GAHSHA valora como válida. La búsqueda FASTA no mostró alineaciones con valores de E score inferiores a 10, y por lo tanto no se requieren estudios adicionales en este punto.

C2.2.2.2 En caso de haber encontrado similitudes, indicar los ensayos realizados para evaluar la potencial alergenicidad y sus resultados (ejemplo: inmunoblotting).

En base a lo desarrollado en los puntos C2.2.1 y C2.2.2.1, ninguna de las dos proteínas en las que se hace foco en este informe (Vip 3Aa19 y APH4, asociadas al evento COT102) proviene de una fuente alergénica, ni posee similitud en la secuencia con un alérgeno conocido. Por lo tanto, de acuerdo con lo establecido en el documento Codex (FAO & WHO, 2009) y EFSA GMO Panel (2011), no corresponde realizar ensayos inmunológicos con sueros específicos.

C2.2.2.3 Evaluación de otras características potencialmente alergénicas (ejemplo: adyuvancia, niveles presentes en alimento, resistencia al procesamiento)

Dentro de la información de otras características que podrían aportar al peso de la evidencia para la evaluación de potencial alergenicidad el dossier incluye el peso molecular, la digestibilidad (o más precisamente la degradación de la proteína *in vitro* ante enzimas proteolíticas) y la estabilidad frente al calor para todas las nuevas proteínas. Tomando como referencia a EFSA (EFSA GMO Panel, 2010; EFSA GMO Panel, 2011; EFSA GMO Panel, 2017), lo que se decide considerar principalmente en el enfoque de peso de evidencia para esta evaluación es la digestibilidad, si bien también se revisa la información de estabilidad frente al calor. Cabe mencionar que la estabilidad frente al calor no es contemplada por EFSA entre los elementos que aportan al peso de evidencia para alergenicidad (EFSA GMO Panel, 2010; EFSA GMO Panel, 2011). Por otra parte, sí se menciona en Codex (FAO & WHO, 2009), pero no se incluyen criterios sobre cómo evaluarlo. Por estos motivos estrictamente no se considera en el peso de la evidencia en este informe, pero se revisa a título informativo.

En lo que respecta a los ensayos de las nuevas proteínas expresadas con enzimas proteolíticas, la evaluación se basó en información contenida en el dossier inicial, pero fundamentalmente en las respuestas de la empresa e informes adicionales enviados (Song, F. 2007a para Vip3Aa19 y Song, F. 2007 para APH4) ante consultas de este grupo AdHoc y el informe EFSA de COT102 (EFSA GMO Panel, 2023). Se realizaron ensayos con pepsina de acuerdo a Thomas et al, 2004 cuyos resultados coinciden con lo reportado por EFSA: las proteínas Vip3Aa19 y APH4 fueron degradadas por pepsina al cabo de 1 min de incubación (EFSA GMO Panel, 2023). Si bien en ambos casos se detectaron fragmentos de bajo peso molecular (~ 3–4 kDa) para diferentes tiempos de incubación, estos fueron calificados por EFSA como transitorios (EFSA GMO Panel, 2023) y considerados no inmuno-reactivos, ya que no se visualizaron en el análisis de Western blot. Tampoco se visualizaron proteínas Vip3Aa19 ni APH4 intactas ni ningún otro fragmento inmuno-reactivo luego de 1 minuto de incubación (EFSA GMO Panel, 2023). En resumen, no hay motivos que generen preocupación respecto a alergenicidad desde este punto de vista.

Sobre la estabilidad frente al calor, se presentan estudios de incubación a diferentes temperaturas. La proteína Vip3Aa19 fue de las más sensibles, inactivándose luego de 30 min a 55°C. No se presentaron estudios de estabilidad frente al calor para APH4, señalan que esperan que se eliminen las cantidades mínimas presentes en semillas de algodón (todas las muestras de semilla o fibra menor a 150 ng/g peso seco) por el procesamiento habitual que sufren las mismas. Dado que la estabilidad frente al calor no se considera entre de los requisitos de información necesarios, no se considera pertinente solicitar más información al respecto.

Al momento de presentación del dossier (2018) no se solicitaba información acerca de la posible actividad de adyuvancia de las nuevas proteínas expresadas (capacidad de potenciar una respuesta de la inmunoglobulina E). De acuerdo al informe EFSA del evento COT102 (EFSA GMO Panel, 2023), EFSA no identifica indicaciones que las proteínas Vip3Aa19 y APH4 a los niveles de expresión del evento puedan ser adyuvantes.

C2.2.4 Evaluación de la alergenicidad del OVGM completo. Valorar la posibilidad de que el modo de acción de las nuevas proteínas altere la alergenicidad de la planta, en función de lo planteado en C2.2.1, 2.2.2 y 2.2.3.

De acuerdo a lo analizado en el punto C2.2.2, no se considera que existe evidencia de que las nuevas proteínas expresadas presenten preocupaciones desde el punto de vista de la alergenicidad.

Por otra parte, tampoco existen razones para creer que la presencia simultánea de las nuevas proteínas expresadas en el evento apilado en algodón pudiera implicar una preocupación en este mismo sentido (Steiner et al., 2013; EFSA GMO Panel, 2018; EFSA GMO Panel, 2023).

Por lo tanto, en base al análisis realizado y al conocimiento actual, se considera que no es esperable que la modificación genética pueda generar preocupaciones de alergenicidad adicionales en comparación con la planta no modificada.

C2.3 Toxicidad

El algodón GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102, denominado GLTP, presenta tolerancia a la aplicación de los herbicidas glufosinato de amonio (dada por el gen pat) y glifosato (dada por el gen 2mEPSPS), además de protección frente al daño causado por ciertas especies de insectos lepidópteros (dada por los genes Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19).

GHB614 expresa la proteína 2mEPSPS, T304-40 expresa Cry1Ab y PAT, GHB119 expresa Cry2Ae y PAT, y COT102 expresa Vip3Aa19 y APH4 (higromicina fosfotransferasa), utilizado como marcador de selección en el proceso de obtención de este evento.

La mayoría de estas proteínas ya han sido previamente estudiadas y los eventos han sido aprobados por la CGR (Ej: Maíz BT11, Maíz BT11xMIR1, Soja FG72, Soja FG72xA5547-127, Maíz GA21XBT11, Maíz Mon810, Maíz T25, entre otros), no demostrando estas proteínas evidencia de efectos tóxicos en humanos o animales provocados por ellas o por sus constituyentes, y presentando una extensa historia de uso seguro.

C2.3.1 Historia toxicológica de las especies donantes y receptoras

Se trata de organismos donantes ampliamente utilizados en el desarrollo de este tipo de productos (*Bacillus thuringiensis*, *Streptomyces hygroscopicus*, *Zea mays* (maíz) y *Escherichia coli*), tanto en algodón como en otros cultivos, sin que se hayan reportado efectos adversos asociados a su uso.

Con respecto al algodón como organismo receptor, sus principales subproductos para consumo alimentario son: aceite, torta y harina, cáscaras, linters (fibras cortas adheridas a la semilla), semillas sin deslinter y semillas deslinteradas. De estos subproductos los únicos que se utilizan para consumo humano con un largo historial de uso seguro son el aceite y los linters. El resto se utiliza para consumo animal, y se tiene en cuenta los niveles del compuesto tóxico gosispol de los subproductos para su administración. Este compuesto es tóxico en monogástricos, aves, muchos insectos y microbios.

C2.3.2.1 Historia de las nuevas proteínas expresadas que puedan aportar a la evaluación de su toxicidad

PAT

Esta proteína ha sido evaluada en eventos anteriores que han sido aprobados en Uruguay como el MON89034XTC1507XNK603, es utilizada hace muchos años en eventos transgénicos consumidos por el hombre y los animales, y no se han reportado casos de toxicidad a lo largo del tiempo.

2mEPSPS

Dicha proteína también ha sido evaluada en eventos anteriores y aprobados por la CGR como la Soja FG72, y no se han reportados efectos adversos a lo largo del tiempo.

Cry1Ab y Cry2Ae

Si bien el efecto de las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae es tóxico, está específicamente limitado a ciertas especies de insectos lepidópteros y ha sido exhaustivamente estudiado en los últimos 20 años sin haberse encontrado efectos tóxicos sobre humanos o animales. La proteína Cry1Ab ha sido evaluada en el marco del evento Maíz GA21XBT11 y Maíz MON810, los cuales han sido aprobados por la CGR y tampoco se reportan efectos adversos en cuanto a su inocuidad a lo largo del tiempo.

Para la proteína Cry2Ae la empresa presenta datos de toxicidad oral aguda en ratones que aportan evidencia al respecto de su falta de toxicidad.

Vip3Aa19

Un informe de EPA de 2008 (EPA, 2008) detalla que la empresa Syngenta presentó cuatro estudios de toxicidad oral aguda realizados en ratones, todos los cuales indicaron que Vip3Aa no es tóxica para los humanos ni para los animales. No se observaron efectos adversos en ninguno de los estudios relacionados con el tratamiento.

APH4

El organismo donante del gen aph4 utilizado como marcador de selección es la bacteria *E. coli* cepa K12. Las bacterias del género *Escherichia* son ubicuas en el ambiente y son habitantes comunes del tracto digestivo de los vertebrados, incluyendo a los humanos (Souza et al., 2001).

C2.3.2.2 Similitud de nuevas proteínas expresadas con sustancias tóxicas conocidas (análisis bioinformáticos).

El informe proporcionado por el grupo GAHCIM detalla el análisis bioinformático realizado, que abarca el estudio de proteínas putativas expresadas de nuevos ORF, así como también información sobre expresión constitutiva del gen aph4. En base a esta información, no se observan elementos de preocupación para este evento.

C2.3.2.3 Evaluación de toxicidad aguda de las nuevas proteínas expresadas (en modelos animales o por métodos alternativos).

Las proteínas presentes en el algodón GLTP poseen una probada historia de uso seguro en otros eventos transgénicos. La empresa presenta estudios de toxicidad en ratones para confirmar lo antedicho:

Para las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae (2.000 mg/kg de peso) y PAT (10 mg/kg) se realizó un ensayo de administración oral aguda en ratones de la cepa OF1 (5 hembras por grupo). Se controlaron diariamente los signos clínicos y el peso semanal de todos los animales durante 15 días. Posteriormente se realizó una necropsia de los animales para llevar adelante un examen macroscópico de los principales órganos. En estos estudios no se detectó mortalidad de los animales o signos clínicos de toxicidad que pudieran asociarse a la administración oral aguda de dichas proteínas (Rouquié, 2007; Rouquié, 2006a)

Para evaluar la toxicidad aguda de la proteína 2mEPSPS, la misma fue administrada por vía oral en ratones de la cepa OF1 (5 hembras por grupo) a una dosis de 2.000 mg/kg peso corporal. Como en el ensayo anterior, se evaluaron los signos clínicos diariamente y el peso corporal semanalmente durante 15 días. Al finalizar el ensayo se realizó una necropsia para evaluar anatomía patológica en los principales órganos. No se encontraron signos clínicos, mortalidad, o efectos relacionados con los tratamientos asociados a la administración oral aguda de la proteína 2mEPSPS (Rouquié, D., 2006b).

En base a estos resultados, se puede inferir que es muy poco probable que estas proteínas sean tóxicas aún bajo condiciones de máxima exposición oral a una dosis muy elevada, indicando que las proteínas son seguras para el consumo humano o animal.

Por otro lado, para evaluar la toxicidad oral aguda de la proteína Vip3Aa19, se realizaron cuatro estudios diferentes en roedores con distintas preparaciones de la proteína. No se observaron efectos adversos relacionados con el tratamiento en ninguno de los estudios, y la proteína Vip3Aa19 puede considerarse no tóxica. Tres de estos estudios se realizaron con proteína Vip3Aa19 producida microbianamente y uno se llevó a cabo con material extraído de hojas de maíz VIP3A enriquecido con VIP3A. Dos de los estudios realizados con material producido microbianamente utilizaron preparaciones de VIP3A que tenían diferencias menores en las secuencias de aminoácidos del codificado por el gen vip3Aa19 en el caso del algodón COT102, debido a las diferencias de secuencia en los genes expresado en las cepas recombinantes de *E. coli*. El tercer estudio con material producido microbianamente utilizó un gen que codificaba la secuencia de aminoácidos idéntica a VIP3A codificada por el gen vip3Aa19 en el caso del algodón COT102 (Artim, 2003).

Debido a que no se observó toxicidad en la prueba VIP3A más alta, se puede concluir que el nivel de efecto no observado (NOEL) fue de 3.675 mg/kg de peso corporal. La LD50 se puede estimar como >3.675 mg/kg de peso corporal.

En el caso de la proteína APH4, se suministró APH4-0102 a 5 ratones macho y 5 hembras mediante sonda orogástrica con una dosis de 1.828mg/kg de peso corporal. Dicha sustancia contiene aprox. 42,6% de la proteína APH4 por peso. Por lo tanto, los ratones recibieron aprox. 779 mg aph4/kg de peso corporal. Se realizaron observaciones de mortalidad y signos clínicos /comportamentales de toxicidad una vez al día y durante 15 días. Los pesos corporales se registraron diariamente y el consumo de alimentos se registró semanalmente. Los animales supervivientes se sacrificaron 14 días después de la dosificación. No se produjo mortalidad durante el estudio y no se observaron signos clínicos de toxicidad en los grupos de prueba o control. No hay evidencia de toxicidad de la sustancia de prueba. El valor LD50 estimado para la proteína APH4 pura en ratones macho y hembras es > 779 mg / kg de peso corporal, la dosis única probada (Artim, 2003).

El solicitante no proporcionó un estudio de toxicidad oral aguda para la proteína PAT. Sin embargo, en los informes de EFSA para el algodón GHB614 x 3T304-40 x 3GHB119 se encontraron 2 estudios de toxicidad oral aguda en ratones en los cuales se administró la proteína PAT derivada de *E. coli* por sonda orogástrica a dosis de ~ 1800 mg/kg de peso corporal (pc) a ratones macho y hembra C57BL/6J y ~ 1880 mg/kg de pc a ratones hembra C57BL/6J. En estos estudios no se observaron efectos adversos relacionados con la proteína PAT. Por otro lado, el panel de EFSA ha evaluado previamente la seguridad de la proteína PAT en el contexto de varias solicitudes para la comercialización en el mercado de la UE de cultivos GM que expresan PAT, y no se identificaron problemas toxicológicos.

C2.3.2.4 Evaluación de toxicidad subcrónica o crónica de las nuevas proteínas expresadas. Si no corresponde, justificar por qué.

Se considera que no es necesario realizar un ensayo de toxicidad subcrónica o crónica ya que las nuevas proteínas expresadas (2mEPSPS; Cry1Ab, Cry2ae, PAT, Vip3Aa19 y APH4), ampliamente estudiadas y presentes en una gran cantidad de eventos transgénicos, hacen que sea poco probable que este evento apilado *per se* produzca toxicidad subcrónica o crónica de acuerdo con los antecedentes

C2.3.2.5 Ensayos de carácter carcinogénico y teratogénico a corto y mediano plazo. Si no corresponde, justificar por qué.

En base a la evidencia presentada de otros estudios analizados en el presente informe, es altamente improbable que se expresen propiedades carcinogénicas o teratogénicas. Por esta razón, dichos ensayos no fueron realizados. Desde punto de vista de composición nutricional, según C.2.1, el evento de algodón GHB614 x GHB119 x T304-40 x COT102 es tan inocuo como su contraparte convencional. Por otro lado, no se evidenciaron potenciales efectos tóxicos o alergénicos de las proteínas 2mEPSPS; Cry1Ab, Cry2ae, PAT, Vip3Aa19 y APH4 hacen que sea altamente improbable la expresión de propiedades carcinogénicas o teratogénicas.

C2.3.3 En el caso que existan cambios biológicos relevantes en la composición del OVGM (en relación a su homólogo convencional o comparador adecuado), diferentes a las nuevas proteínas expresadas, realizar la evaluación toxicológica de los nuevos componentes. Si no corresponde, justificar por qué.

Las características introducidas en el algodón GLTP no confieren ninguna novedad alimenticia, siendo el algodón GHB614 x GHB119 x T304-40 x COT102 sustancialmente equivalente a su homólogo convencional por lo que no se realizaron este tipo de evaluaciones.

C2.3.4 Evaluación toxicológica del alimento completo.

En los estudios anteriores no se identificaron indicios de potenciales efectos adversos relevantes para el algodón GLTP. Por lo tanto, los estudios en animales sobre alimentos derivados del algodón GLTP no son necesarios. Igualmente se encontraron en el informe de EFSA estudios de toxicidad de dosis repetidas orales de 90 días en ratas, en alimentos enteros y piensos de algodón GHB614, T304-40 y GHB119 que aportan información interesante en cuanto a la falta de toxicidad del alimento completo para los eventos por separado. Los mismos se resumen a continuación:

Para todos los eventos el alimento y el agua se proporcionaron ad libitum durante 90 días. Se evaluaron los animales dos veces al día en busca de signos clínicos. Se realizaron exámenes físicos detallados en todos los animales antes del tratamiento y luego semanalmente durante el período de dosificación. Se registró peso corporal individual antes del tratamiento, el primer día de dosificación, semanalmente durante el período de dosificación y el día anterior a la necropsia programada. Se determinó el consumo de alimento (por jaula) semanalmente durante el estudio (dos veces por semana las primeras 6 semanas). Se registraron los parámetros de oftalmoscopia y FOB y actividad motora en todos los animales antes del tratamiento y al final del estudio. La patología clínica, análisis de orina y examen de necropsia con pesaje de órganos seleccionados se llevaron a cabo al final del período de tratamiento en todos los animales. Los animales se mantuvieron en ayunas durante la noche antes de la extracción de sangre y mientras estaban en jaulas de metabolismo para la recolección de orina. Los órganos y tejidos de la dieta de prueba al 10%, la dieta de control y de referencia, así como las lesiones macroscópicas de todos los grupos, se sometieron a un examen histopatológico detallado. El análisis estadístico principal comparó ratas que consumían cada una de las dos dietas de prueba (5% y 10%) con las que consumían la dieta de control. Se realizó una comparación adicional entre el grupo de control y el grupo de referencia. Todas las comparaciones se realizaron con un ANOVA aplicado por separado a machos y hembras.

Estudio de alimentación de 90 días en ratas: algodón GHB119

Para este estudio se utilizaron ratas Wistar Rj: WI (IOPS HAN) según OECD TG408. Los grupos fueron alimentados con dietas que contenían 5% o 10% (p/p) de harina tostada de semillas de algodón GHB119 rociado con glufosinato²⁷ (dietas de prueba); 10% (p/p) de harina tostada de semillas de algodón de la contraparte convencional (Coker 312, dieta de control) o 10% (p/p) de harina tostada de semillas de algodón comercial no transgénico (FM958, dieta de referencia).

No se observó mortalidad durante el estudio. No se registraron signos clínicos ni hallazgos oftalmoscópicos relacionados con la dieta. El consumo de alimento fue similar en todos los grupos. Las hembras alimentadas con la dieta de prueba al 10% mostraron un aumento significativo en la ganancia de peso corporal en el día 57 en comparación al grupo control. Se observó una fuerza de agarre de las patas traseras estadísticamente significativamente menor en las observaciones neuromusculares en ratas hembra alimentadas con dieta de prueba (15% y 17% de disminución en los grupos de dieta de prueba del 5% y 10%, respectivamente, en comparación con los controles). Este fue el único cambio entre los parámetros examinados en el FOB y, por lo tanto, no se consideró relacionado con la dieta de prueba. No se observaron cambios hematológicos estadísticamente significativos en las ratas que recibieron las dietas de prueba en comparación con los controles. Se observó un aumento estadísticamente significativo del tiempo de protrombina en las hembras que recibieron la dieta de prueba del 10% en comparación con los controles (~ 9%). Debido a la pequeña magnitud del cambio y dado que esto no se asoció con cambios en los puntos finales relacionados (por

ejemplo, ninguna diferencia en el recuento de plaquetas entre los grupos dados las dietas de prueba y los controles o en la histopatología del bazo y la médula ósea), se considera que este cambio no es adverso. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de bioquímica clínica entre las ratas que recibieron las dietas de prueba y sus controles, excepto por una disminución de la bilirrubina total en los machos que recibieron la dieta de prueba al 10% (~ 29%). Este hallazgo no se asoció con cambios en los criterios de valoración relacionados (por ejemplo, otros parámetros de bioquímica clínica hepática e histopatología hepática) y, por lo tanto, no se consideró adverso. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros del análisis de orina en los animales que recibieron las dietas de prueba, en comparación con los controles. No se observaron lesiones macroscópicas o hallazgos microscópicos relacionados con la dieta de prueba en los órganos o tejidos examinados. Los hallazgos histopatológicos esporádicos se consideran compatibles con la patología de fondo espontánea en ratas de esta cepa y edad.

En conclusión, no se observaron efectos adversos relacionados con el GHB119 después de una administración de 90 días de una dieta formulada con 5% y 10% de harina tostada de semillas de algodón en ratas.

Algodón GHB614

Ratas Wistar Rj: WI (IOPS HAN) (10/sexo por grupo) se asignaron a cuatro grupos. Los grupos fueron alimentados con dietas que contenían aproximadamente 5% o 10% (p / p) de harina tostada de semillas de algodón de algodón GHB614 rociado con glifosato (dietas de prueba); 10% (p / p) de harina tostada de semillas de algodón del comparador Fibermax 958 (dieta de control). Además, se proporcionó a 10 ratas / sexo por grupo una dieta que contenía 10% (p / p) de harina tostada de semillas de algodón de un algodón no transgénico (Acala GTO Maxxa, dieta de referencia). El estudio proporcionado fue adaptado de OECD TG 408 y cumpliendo con los principios de BPL. El análisis estadístico principal comparó ratas que consumían cada una de las dos dietas de prueba (5% y 10%) con las que consumían la dieta de control. Se realizaron comparaciones adicionales entre los dos grupos de prueba y el grupo de referencia y entre el grupo de control y el grupo de referencia. Todas las comparaciones se realizaron con un ANOVA aplicado por separado a machos y hembras. Se considera que las pocas diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de dieta de control y de referencia en los parámetros examinados están dentro de la variabilidad biológica normal. No se produjeron muertes relacionadas con el tratamiento. No se observaron signos clínicos ni hallazgos oftalmoscópicos relacionados con la dieta de prueba. El consumo de alimento fue similar en todos los grupos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de peso corporal en ratas que recibieron las dietas de prueba en comparación con los controles. No se observaron diferencias en los parámetros de actividad locomotora exploratoria y FOB entre las ratas que recibieron las dietas de prueba y los controles. No se observaron cambios hematológicos y de coagulación relacionados con la dieta de prueba. Las hembras que recibieron una dieta de prueba del 10% mostraron un aumento estadísticamente significativo de la actividad media de la fosfatasa alcalina (~ 29%) y un aumento de la concentración media de fósforo inorgánico (~ 11%) en comparación con los controles. Estos hallazgos no se asociaron con cambios en los criterios de valoración relacionados (p. Ej., Otros parámetros de química clínica y hallazgos histopatológicos que indiquen toxicidad hepática o renal) y, por lo tanto, no se consideraron adversos. No se observaron cambios relacionados con la dieta de prueba en el análisis de orina. No se observaron lesiones macroscópicas o hallazgos microscópicos relacionados con la dieta de prueba en los órganos o tejidos examinados. Los hallazgos histopatológicos esporádicos se consideran compatibles con la patología de fondo espontánea de ratas de esta cepa y edad. Se concluye que no se observaron efectos adversos relacionados con el algodón GHB614 en este estudio después de una administración de 90 días a ratas de una dieta formulada con 5% y 10% de harina tostada de semillas de algodón.

Algodón T304-40

Para este evento se utilizaron ratas Wistar Rj: WI (IOPS HAN) según OECD TG408. Los animales fueron alimentados con dietas con 5% - 10% (p/p) de harina tostada de semillas de algodón T304-40 (dieta de prueba); 10% (p/p) de harina tostada de semillas de algodón de la contraparte convencional (Coker 315,

dieta de control) y 10% (p/p) de harina tostada de semillas de algodón comercial no transgénico (FM958, dieta de referencia).

No se observaron mortalidades durante el estudio. No se observaron signos clínicos ni hallazgos oftalmoscópicos relacionados con el tratamiento. El consumo de alimento fue similar en todos los grupos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de peso corporal en ratas que recibieron las dietas de prueba en comparación con los controles. Se observó una fuerza de agarre media de las extremidades anteriores estadísticamente significativamente más alta en las hembras que recibieron la dieta de prueba del 10% y un mayor valor medio de extensión del pie de aterrizaje en las hembras que recibieron la dieta de prueba del 5% en comparación con los controles. Estos fueron los únicos cambios entre los parámetros examinados en el FOB y, por lo tanto, no se considera que esté relacionado con la dieta de prueba. No se observaron cambios relacionados con la dieta de prueba en los parámetros exploratorios de la actividad locomotora. No se observaron hallazgos hematológicos, de coagulación, de bioquímica clínica ni de análisis de orina relacionados con la dieta de prueba. No se observaron lesiones macroscópicas o hallazgos microscópicos relacionados con la dieta de prueba en los órganos o tejidos examinados. Los hallazgos histopatológicos esporádicos se consideran compatibles con la patología de fondo espontánea de ratas de esta cepa y edad. Se concluye que no se observaron efectos adversos relacionados con el algodón T304-40 en este estudio después de una administración de 90 días a ratas de una dieta formulada con 5% y 10% de harina tostada de semillas de algodón.

CONCLUSIONES

Respecto a la solicitud de liberación para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento para el algodón GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102, en base al estudio de la información realizada, no se identifican posibles efectos adversos a la salud humana y animal del evento en ninguna de las características estudiadas y en el contexto de la aplicación planteada.

BIBLIOGRAFÍA

Artim, 2003. Contributing Petition for the Determination of Non-Regulated Status: Lepidopteran Insect Protected VIP3A Cotton Transformation Event COT102.

Codex Alimentarius. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/Organización Mundial de la Salud (OMS), 2003. Directrices para la realización de la evaluación de la inocuidad de los alimentos obtenidos de plantas de ADN recombinante. CAC/GL 45-2003.

Codex Alimentarius. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/World Health Organization (WHO), 2009. Foods derived from modern biotechnology, 2nd edition. CAC/GL 44-2003, CAC/GL 45-2003, CAC/GL 46-2003 and CAC/GL 68-2008

Codex Alimentarius. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/Organización Mundial de la Salud (OMS), 2020. Código de prácticas sobre la gestión de los alérgenos alimentarios por parte de los operadores de empresas de alimentos. CXC 80-2020.

Conceição AA, Soares Neto CB, Ribeiro JAdA, Siqueira FGd, Miller RNG, Mendonça S (2018) Development of an RP-UHPLC-PDA method for quantification of free gossypol in cottonseed cake and fungal-treated cottonseed cake. PLoS ONE 13(5): e0196164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196164>

EFSA CEP Panel (EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids), 2021. Scientific Opinion on the safety evaluation of the food enzyme D-psicose 3-epimerase from the genetically modified *Escherichia coli* strain K-12 W3110 (pWKLp). EFSA Journal 2021;19(4):6565, 10pp.<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6565>ISSN.

EFSA, 2008. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. Gossypol as undesirable substance in animal feed. Adopted May 2008

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2010. Scientific Opinion on the assessment of allergenicity of GM plants and microorganisms and derived food and feed. EFSA Journal 2010; 8(7):1700. [168 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1700. Available online: www.efsa.europa.eu.

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2011. Scientific Opinion on Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. EFSA Journal 2011; 9(5): 2150. [37 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2150. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal.html.

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2017. Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants. EFSA Journal. 2017;15(5):4862, 49 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4862>.

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2018. Scientific Opinion on the assessment of genetically modified cotton GHB6149T304-409GHB119 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 (application EFSA-GMO-NL-2014-122). EFSA Journal 2018;16(7):5349, 32 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5349>.

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2021. Scientific Opinion on the assessment of genetically modified cotton GHB811 for food and feed uses, under Regulation (EC) No 1829/2003 (application EFSA-GMO-ES-2018-154). EFSA Journal 2021;19(8):6781, 29 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6781>.

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2023. Scientific Opinion on the assessment of genetically modified cotton COT102 for food and feed uses, under Regulation (EC) No 1829/2003 (application EFSA-GMO-DE-2017-141). EFSA Journal 2023;21(6):8031, 35 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8031>

EPA, 2007. Bacillus thuringiensis Vip3Aa19 protein and the genetic material necessary for its production (vector pCOT1) in Event COT102 cotton plants (006499) Experimental Use Permit Factsheet. Disponible en: https://archive.epa.gov/pesticides/biopesticides/web/html/factsheet_006499.html

Food and Agriculture Organization (FAO) GM Foods Platform. Disponible en: <https://www.fao.org/food/food-safety-quality/gm-foods-platform/browse-information-by/oced-unique-identifier/oced-unique-identifier-details/en/?ui=169655>

Food and Agriculture Organization (FAO)/Organización Mundial de la Salud (OMS), 2001. Evaluación de la alergenicidad de los alimentos modificados genéticamente - Informe de una Consulta FAO/OMS de Expertos sobre alergenicidad de los alimentos obtenidos por medios biotecnológicos. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-y0820s.pdf>

Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act (FALCPA), 2004. Estados Unidos. Public Law 108-282, 118 STAT. 905-911. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/food-allergens/gluten-free-guidance-documents/regulatory-information/food-allergen-labeling-and-consumer-protection-act-2004-falcpa>

Food Allergy Safety, Treatment, Education, and Research Act, 2021. Estados Unidos. Public Law 117-11, 135 Stat. 262 and 263. Disponible en: <https://www.govinfo.gov/app/details/PLAW-117publ11>

Gabinete Nacional de Bioseguridad (Uruguay), Resolución GNBio N° 148/022, N° de expediente: 2015/7/1/1/4154. Disponible en: <https://www.gub.uy/institucional/normativa/resolucion-n-148022-autorizacion-para-produccion-y-uso-comercial-para>

Gabinete Nacional de Bioseguridad (Uruguay), Resolución GNBio N° 137/021, N° de expediente: 2018/7/9/1/25. Disponible en: <https://www.gub.uy/institucional/normativa/resolucion-n-137021-autorizacion-para-roduccion-y-uso-comercial-para>

Gadelha, I. C. N., Fonseca, N. B. S., Oloris, S. C. S., Melo, M. M., & Soto-Blanco, B. (2014). The Scientific World Journal, 2014, 1–11Gossypol Toxicity from Cottonseed Products doi:10.1155/2014/231635

Goodman R.E., Ebisawa M., Ferreira F., *et al*, 2016. AllergenOnline: A peer-reviewed, curated allergen database to assess novel food proteins for potential cross-reactivity. Mol. Nutr. Food Res. 60(5):1183-1198. Disponible en: <http://www.allergenonline.org/databasebrowse.shtml>

Ivanciuc, O., Schein. C. H., Braun, W., 2003. SDAP: Database and Computational Tools for Allergenic Proteins. Nucleic Acids Res. 31(1). 359-362. Disponible en: https://fermi.utmb.edu/cgi-bin/new/sdapcgi_06.cgi?nameID=Z

Mari A., Scala E., 2006. Allergome: a unifying platform. Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf A M. 2006:(95):29-39; discussion 39-40. Disponible en: https://www.allergome.org/script/search_step2.php?action=search&type_archive=&no_unknown=&only_iuis=&no_isoform=&first_archivie=13&first_field=Escherichia%20col

Marsh D.G., Goodfriend L., King T.P., *et al*, 1986. Allergen nomenclature. Bull World Health Organ. 64: 767-74. Disponible en: <http://allergen.org/search.php?allergenSource=Zea+mays>

M-500982-02-1. Bayer Co Study number 13- RSWST 046 Compositional Analysis Report Compositional Analysis of Field Grown Samples from GBH614 x T304-40 x GBH119 x Cot102. Cotton. USA 2013.

OECD, 2002. Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea Mays*): key food and feed nutrients, antinutrients and secondary plant metabolites. ENV/JM/MONO(2002)25.

OECD, 2009. Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Cotton (*Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*): Key Food and Feed Nutrients and Anti-Nutrients. ENV/JM/MONO(2004)16.

OECD, 2004. ENV/JM/MONO(2004)16. Consensus document on compositional considerations for new varieties of cotton (*Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*): key food and feed nutrients and anti-nutrients

Reglamento Unión Europea (UE) 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 25 de octubre de 2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor y por el que se modifican los Reglamentos (CE) no 1924/2006 y (CE) no 1925/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, y por el que se derogan la Directiva 87/250/CEE de la Comisión, la Directiva 90/496/CEE del Consejo, la Directiva 1999/10/CE de la Comisión, la Directiva 2000/13/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 2002/67/CE, y 2008/5/CE de la Comisión, y el Reglamento CE n°608/2004 de la Comisión.

Rouquié, D., 2007. Cry1Ab protein acute toxicity by oral gavage in mice. Bayer internal report. 58p

Rouquié, D. 2006a. Gem2 protein acute toxicity by oral gavage in mice. Bayer internal report 62p.

Rouquié, D., 2006b. 2mEPSPS protein acute toxicity by oral gavage in mice. Bayer internal report. 64p

S.M. Ghazani, A.G. Marangoni (2016). Healthy Fats and Oils. Elsevier, Reference Module in Food Science. ISBN 9780081005965. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00100-1>

Song, F. 2007 (Ammended 2014). Report number SSB-147-07 A1. In Vitro Digestibility of Hygromycin B Phosphotransferase(Test Substance APH4-0102) Under Simulated Mammalian Gastric Conditions. Final Report Amendment 1.

Song, F. 2007a (Ammended 2014). Report number SSB-173-07 A1. In Vitro Digestibility of Vip3Aa19 as Contained in Test Substance VIP3A-0204 under Simulated Mammalian Gastric Conditions. Final Report Amendment 1.

Souza, V., Castillo, A., Rocha, M., SandNer, L., Silva, C., & Eguiarte, L. (2001). Ecología evolutiva de *Escherichia coli*. *Interciencia* 26 (10): 513-517.

Steiner H. Y., Halpin C., Jez J. M., *et al.*, 2013. Editor's choice: evaluating the potential for adverse interactions within genetically engineered breeding stacks. *Plant Physiol.* 161, 1587–1594. doi: 10.1104/pp.112.209817

Thomas K., Aalbers M., Bannon G.A., *et al.*, 2004. A multi-laboratory evaluation of a common in vitro pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 39, 87-98.

Van Ree, *et al.*, 2021. The COMPARE Database: A Public Resource for Allergen Identification, Adapted for Continuous Improvement. *Frontiers in Allergy*. 2021; <https://doi.org/10.3389/falgy.2021.700533>. Disponible en: <https://db.comparedatabase.org/>