

PARECER TÉCNICO Nº 3290/2012

Processo nº: 01200.000561/2011-86

Requerente: Bayer S.A

CNPJ: 18.459.628/0001-15

Endereço: Rua Domingos Jorge, 1100 Prédio, 9504 – 3º andar São Paulo-SP

Assunto: Liberação comercial de OGM

Extrato Prévio: nº 2702/2011, publicado em 16/03/2011

Reunião: 153ª Reunião Ordinária, ocorrida em 21/06/2011

Decisão: DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação do pedido de parecer para liberação comercial de algodão geneticamente modificado tolerante ao herbicida glufosinato de amônio e ao herbicida glifosato denominado GlyTol x LibertyLink (GTxLL)– evento GHB614 x LLCotton25, bem como todas as progênies dele provenientes, concluiu pelo DEFERIMENTO, nos termos deste parecer técnico.

A CTNBio, após apreciação do pedido de parecer para liberação comercial de algodão geneticamente modificado tolerante ao herbicida glufosinato de amônio e ao herbicida glifosato denominado GlyTol x LibertyLink (GTxLL)– evento GHB614 x LLCotton25, bem como todas as progênies dele provenientes, com vistas ao 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, respeitadas as demais legislações e exigências aplicáveis, concluiu pelo DEFERIMENTO, nos termos deste parecer técnico. O evento combinado GHB614 x LLCotton25 foi obtido pela requerente através do melhoramento genético clássico por cruzamentos entre duas plantas geneticamente modificadas, o algodão GHB614 e o algodão LLCotton25 e seleção de indivíduos com as características desejadas. O organismo analisado apresenta as características de tolerância aos herbicidas glifosato e glufosinato de amônio, conferidas pelos genes *2mepsps* e *bar* respectivamente. Ambos os eventos já foram, individualmente liberados comercialmente pela CTNBio, através do Parecer Técnico Nº 1.521/2008 (DOU nº 171 de 04/09/2008), que se refere à liberação comercial do algodão geneticamente modificado tolerante ao herbicida glufosinato de amônio (algodão LibertyLink, Evento LLCotton25) e do Parecer Nº 2.754/2010 (DOU nº 241 de 17/12/2010), que se refere à liberação comercial do algodão geneticamente modificado tolerante ao herbicida glifosato (algodão GlyTol, Evento GHB614). As análises dos resultados de todos os testes indicaram que o algodão GlyTol x LibertyLink é considerado substancialmente equivalente a outras variedades de algodão. As zonas de restrição ao plantio de algodão geneticamente modificado (Anexo da Portaria MAPA nº 21/2005), deste evento GlyTol x LibertyLink (GTxLL) e de outras transformações, devem ser rigorosamente observadas pelos órgãos de fiscalização, tanto no comércio de sementes em tais áreas, quanto na orientação técnica e monitoramento da empresa requerente. A CTNBio, ao longo das etapas de avaliação do presente processo, analisou os relatórios apresentados pela requerente bem como a literatura científica independente.

PARECER TÉCNICO

I. Identificação do OGM

Designação do OGM: algodão geneticamente modificado tolerante ao herbicida glufosinato de amônio e ao herbicida glifosato denominado GlyTol x LibertyLink (GTxLL)– evento GHB614 x LLCotton25

Requerente: Bayer S.A

Espécie: *Gossypium hirsutum* L.

Característica Inserida: Tolerância aos herbicidas glifosato e glufosinato de amônio

Método de introdução da característica: melhoramento genético clássico, por cruzamentos e seleção entre indivíduos contendo os eventos GlyTol x LibertyLink (GTxLL)

Uso proposto: produção de fibras para a indústria têxtil, grãos para consumo humano e animal do OGM e seus derivados

II. Informações Gerais

O algodão pertence ao gênero *Gossypium*, tribo Gossypieae, família Malvaceae, ordem Malvales (FRYXELL, P.A. 1979, MUNRO, J.M. 1987). Esse gênero subdivide-se em quatro subgêneros (*Gossypium*, *Sturtia*, *Houzingenia* e *Karpas*), que, por sua vez, se subdividem em nove seções e várias subseções (FRYXELL, P.A., CRAVEN, L.A. E STEWART, J.MCD. 1992). O gênero *Gossypium* é constituído de 52 espécies distribuídas nos continentes: Ásia, África, Austrália e América, sendo que destas apenas 4 são cultivadas. Particularmente, três espécies pertencentes a esse gênero são encontradas no Brasil, *Gossypium hirsutum* L. var. *latifolium*; *Gossypium hirsutum* L. r. *marie galante*; *Gossypium mustelinum* e *Gossypium barbadense* (Embrapa Algodão, 2004). Dentro da cadeia produtiva, cerca de 90% da produção mundial de algodão é de *Gossypium hirsutum* L. e 8% de *Gossypium barbadense* L. (LEE, 1984).

O Brasil é o centro de origem de *G. mustelinum* e importante centro de diversidade de *G. barbadense* e *G. hirsutum* r. *marie galante*. Segundo FREIRE et al. (1990) a espécie *G. mustelinum* nunca foi melhorada ou explorada comercialmente, 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 se encontram algumas populações nos municípios de Caiacó-RN, Macurerê-BA e Caraíba-BA (FREIRE, 2000).

No Brasil, são encontradas duas variedades, ambas na forma semi-domesticada. O Rim-de-Boi (*G. barbadense* var. *brasiliense*) possui sementes sem linter, fortemente coladas umas as outras, com aspecto de rim. A outra variedade, (*G. barbadense* var. *barbadense*) conhecida como Quebradinho ou Maranhão, possui sementes sem linter e descoladas. É proveniente do norte do Peru e sul do Equador e deve ter sido introduzida no Brasil por populações indígenas, cujos descendentes até hoje utilizam sua fibra na confecção artesanal de tecidos, como planta medicinal e para a confecção de pavios para lamparinas. Ambas as variedades são arbóreas e perenes. Sua distribuição no Brasil é ampla, sendo preservadas por lavradores há muitas gerações. São encontradas na região amazônica, nas terras baixas do Maranhão e do Piauí, nas cidades do ciclo de mineração do Estado do Mato Grosso, nas áreas circunvizinhas ao Pantanal Matogrossense e na Mata Atlântica, desde o Rio Grande do Norte até o Espírito Santo. A dispersão das duas variedades de *G. barbadense* pelos diferentes locais ocorreu devido a práticas de agricultura (Boulanger & Pinheiro, 1972; Smith & Cothren, 1999).

A espécie *Gossypium hirsutum* L., também denominado de algodoeiro herbáceo, é amplamente cultivada no Brasil (Craven et al., 1994) e é a principal espécie cultivada no mundo para a produção da fibra de algodão (PENNA, J.C.V., 2005) A cultura de algodão no Brasil está entre as dez principais culturas agrícolas do Brasil e ocupa também o sexto lugar mundial em superfície cultivada.

III. Descrição do OGM e Proteínas Expressas

O evento combinado GHB614 x LLCotton25 foi obtido pela requerente através do melhoramento genético clássico por cruzamento entre o algodão GHB614, no background genético FM958, e o algodão LLCotton25, no background FM981. O algodão combinado GHB614xLLCotton25 (GTxLL) é a descendência F3 do cruzamento entre eles e a seleção de indivíduos com as características desejadas. Ambos os eventos já foram, individualmente liberados comercialmente pela CTNBio, através do Parecer Técnico N° 1.521/2008 (DOU n° 171 de 04/09/2008), que se refere à liberação comercial do algodão geneticamente modificado tolerante ao herbicida glufosinato de amônio (algodão LibertyLink, Evento LLCotton25) e do Parecer N° 2.754/2010 (DOU n° 241 de 17/12/2010), que se refere à liberação comercial do algodão geneticamente modificado tolerante ao herbicida glifosato (algodão GlyTol, Evento GHB614).

Algodão LibertyLink, Evento LLCotton25

No algodão LLCotton25 é expresso o gene *bar*, obtido a partir da bactéria *Streptomyces hygroscopicus*. O gene *bar* expressa a enzima PAT (fosfinotricina-N-acetil-transferase), que catalisa a reação de acetilação da fosfinotricina, produzindo o composto inativo N-acetil fosfinotricina que é posteriormente metabolizado nas células vegetais. A fosfinotricina sintética é denominada glufosinato de amônio, que controla as plantas invasoras por ser um inibidor

Secretaria Executiva da CTNBio

SPO – Área 05 – Quadra 03 Bloco B – Térreo – Salas 08 a 10

Brasília, DF – CEP: 70610-200

Fones: (55)(61) 3411 5516 – FAX: (55)(61) 3317-7475

da enzima glutamina sintase (GS), responsável pela incorporação da amônia ao ácido glutâmico, formando a glutamina. A inibição da GS resulta em déficit de glutamina e acúmulo de amônia até alcançar níveis tóxicos nas células, que leva a dessecação do vegetal. O glufosinato apresenta um amplo espectro de ação, controlando dicotiledôneas e monocotiledôneas. O algodão evento LLCotton25 possui como característica resultante a tolerância ao herbicida glufosinato de amônio.

O Evento LLCotton25 contém o gene quimérico p35S::bar::Nos3', havendo uma cópia intacta do cassete. Este evento foi obtido através da transformação genética de algodão variedade Coker 312, mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, contendo o vetor binário pGSV71.

Com relação à proteína PAT, na análise da avaliação de risco (processo nº 01200.001894/2004-01) identificou-se que: (i) não tem homologia com nenhuma proteína alergênica, toxina ou antinutrientes; (ii) não apresentam nenhum sítio de glicosilação (presente em vários componentes alergênicos); (iii) são estruturalmente instáveis em ambientes ácidos; (iv) se degradam e se desnaturam rapidamente no fluido gástrico e intestinal de mamíferos; (v) tem atividade substrato-específica e (vi) não apresentou nenhum efeito adverso em mamíferos, mesmo quando administrada a proteína pura e em altas doses via intravenosa. Dessa forma não existe nenhuma evidência de que a proteína PAT possa causar efeitos adversos a saúde humana ou animal.

Algodão GlyTol, Evento GHB614

No algodão GHB614 foi inserido o gene *2mEPSPS*, que tem como origem o gene *epsps* de milho (*Zea mays*) alterado através de uma mutação sítio dirigida em dois aminoácidos da sequência peptídica original, com alteração na posição 103 (treonina substituída por isoleucina) e na posição 107 (prolina substituída por serina). A enzima EPSPS (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase, E.C. 2.5.1.19) é fundamental na via responsável pela síntese dos aminoácidos aromáticos nos vegetais e em muitos microrganismos (GRUYS & SIKORSKI,1999). A enzima 2mEPSPS possui alta similaridade com a sequência EPSPS de milho (>99,5%), mas possui uma menor afinidade pela molécula do glifosato (LEBRUN et al., 1997), o que confere ao algodão GHB614 seletividade ao efeito herbicida do ingrediente ativo, permitindo que o algodão GHB614 tenha suficiente atividade enzimática mesmo sob a presença do herbicida glifosato.

O Evento GHB614 contém o gene quimérico Ph4a748At-intron1h3At-TPotpC::2mepsps::3'histonAt, havendo uma cópia intacta do cassete. Este evento foi obtido através da transformação genética de algodão variedade Coker 312, mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, contendo o vetor binário pTEM2.

Segundo análise da avaliação de risco realizada pela CTNBio (processo nº 01200.000800/2010-17), não existem evidências de que a proteína 2mEPSPS ofereça risco a saúde humana/animal, comparativamente a utilização do algodão convencional e seus subprodutos na alimentação. A proteína 2mEPSPS foi obtida a partir de uma proteína nativa do milho e sua segurança é demonstrada pelos estudos com alimentação animal (aves tratadas com torta de algodão); análise da digestibilidade da proteína em sistema gástrico e intestinal simulados; verificação da toxicidade aguda por aplicação oral e intravenosa e pela ausência da homologia da proteína 2mEPSPS com compostos tóxicos ou alergênicos.

Os eventos individuais, algodão LLCotton25 e algodão GHB614, são aprovados em diferentes países. O evento LLCotton25 foi inicialmente aprovado em 2003 nos EUA e é atualmente aprovado em onze países. O evento GHB614 foi inicialmente aprovado para plantio nos EUA em 2009 e é atualmente aprovado em nove países (fonte: <http://www.cera-gmc.org/>; <http://www.biotechstatus.com/results.cfm>). Existem atualmente dez eventos combinados em algodão aprovados em diversas partes do mundo com características de tolerância a herbicidas e/ou de resistência a insetos. O algodão combinado GTxLL é aprovado para importação no Japão, México, Austrália, Canadá e, para plantio, nos EUA. No Brasil, as aprovações pela CTNBio de eventos de modificação genética que conferem tolerância ao herbicida glifosato incluem quatro eventos em algodão (algodão GHB614, algodão MON1445, algodão MON531xMON1445, algodão MON88913); dois eventos em soja (soja GTS-40-3-2, soja MON87701xMON89788) e onze eventos em milho (milho NK603, milho GA21, milho MON810xNK603, milho BT11xGA21, milho TC1507xNK603, milho BT11xMIR162xGA21, milho MON89034xNK603, milho

Secretaria Executiva da CTNBio

SPO – Área 05 – Quadra 03 Bloco B – Térreo – Salas 08 a 10

Brasília, DF – CEP: 70610-200

Fones: (55)(61) 3411 5516 – FAX: (55)(61) 3317-7475

MON88017, milho MON89034xTC1507xNK603, milho MON810xTC1507xNK603 e o milho MON89034xMON88017). No caso de eventos de modificação genética que conferem tolerância ao herbicida glufosinato de amônio, a CTNBio aprovou, além do algodão LLCotton25, a soja A2704-12, a soja A5547-127, o milho T25, o milho BT11 e o milho TC1507.

Considerando que a enzima EPSPS atua no metabolismo dos aminoácidos aromáticos, mais especificamente na via do chiquimato, na síntese do composto Corismato e que a enzima PAT não tem nenhuma função vital, atuando apenas na acetilação do herbicida glufosinato de amônio, não existe nenhum indício de que essas proteínas possam interagir, visto que elas não dependem uma da outra, não existe competição por substrato e não ocorre inibição pelo produto final.

IV. Aspectos relacionados à Saúde Humana e dos Animais

O algodão GlyTol x LibertyLink pode ser classificado como Classe de Risco I (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade), pois as sequências de DNA dos organismos doadores e receptor não causam agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente.

Segundo consta do processo encaminhado pela Bayer, é possível afirmar que a hipótese de interação entre as proteínas PAT e 2mEPSPS é praticamente nula, pois a expressão de ambas proteínas se dá pela combinação por cruzamento convencional entre os genitores e não por inserção de DNA recombinante. Além disso, as rotas metabólicas em que as proteínas estão envolvidas são distintas. Esta afirmação baseia-se em testes cujos resultados para os teores da proteína PAT e 2mEPSPS em folhas, grãos e botões florais realizados no algodão GlyTol x LibertyLink e em seus genitores geneticamente modificados foram essencialmente os mesmos. A requerente afirma que os dados obtidos demonstram que as proteínas PAT e 2mEPSPS não dependem nem são afetadas pela presença uma da outra, não competem por substrato e não há inibição pelo produto final dos compostos.

Ainda, de acordo com empresa requerente, a segurança do algodão GlyTol x LibertyLink já foi demonstrada nos eventos isolados GlyTol e LibertyLink. Análises por *Western Blot*, demonstraram que o perfil das proteínas, após clivagem com as mesmas enzimas de restrição usadas na clivagem dos genitores, não difere quando se compara o algodão piramidado e seus genitores, o que faz crer que não houveram alterações da modificação genética em função do cruzamento e melhoramento convencional dos genitores geneticamente modificados.

A requerente informa que a região flanqueadora dos insertos ficou mantida após a combinação dos genitores geneticamente modificados após cruzamento por melhoramento genético clássico.

Análise *in-silico*, com o uso de ferramentas de bioinformática foi feita para verificar a presença de genes e quadros de leitura aberta (ORF) nas regiões de junção, assim como avaliar a presença de novas sequências codificantes. Os resultados demonstraram a presença de duas ORFs, mas os resultados de análises *in silico* para estas regiões demonstraram que não houve presença completa de promotores, portanto não há a possibilidade de geração de RNA mensageiros.

Para a região flanqueadora do evento LLCotton 25 (LibertyLink) foi possível determinar o locus de inserção do inserto. Foi verificado, por homologia, que as regiões flanqueadoras do inserto LL25 correspondem à sequência existente no genoma do algodão convencional (genitor não modificado). Foram realizadas análises *in silico* para verificação se houve alguma alteração em gene funcional ou ORF devido à inserção do cassete *bar*. Estas análises identificaram um total de doze ORFs interrompidas e um gene que cruza a região deletada, mas nenhuma homologia encontrada com qualquer proteína presente nos bancos de dados, indicando como muito improvável que o gene encontrado seja expresso no algodão. A requerente informa que todas as ORFs foram analisadas e nenhuma apresentou similaridade ou identidade com sequências indesejadas.

A utilização do algodão na cadeia alimentar limita-se essencialmente ao uso animal, sendo administrado o farelo e torta de algodão. Apenas o óleo de algodão extraído das sementes é utilizado para a alimentação humana. Normalmente o óleo é purificado, ou seja, está isento do OGM (DNA, Proteínas) ou outros derivados de OGMs. O algodão comercializado possui fatores antinutricionais e tóxicos como o gossipol, ácidos ciclopropenóides e ácido

fítico, os quais impedem seu uso como alimento. Com o processamento, o nível destes elementos cai consideravelmente.

A requerente informa que a combinação dos eventos GlyTol e LLCotton25 através de melhoramento genético clássico não resulta em nenhum novo produto ou organismo que possa alterar a segurança alimentar, inclusive a verificada nos eventos isolados.

Foram realizadas análises para comparação da equivalência substancial entre o algodão combinado e sua isolinha convencional FM958, com e sem aplicação de herbicidas, e análises com seus genitores GlyTol e LibertyLink. Segundo a requerente, as análises mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos. As variáveis nas quais se observaram diferenças significantes ocorreram em função das diversas localidades analisadas e em alguns dos componentes que não são biologicamente relevantes, pois se encontram dentro do limite de variação natural da espécie.

Os estudos de avaliações toxicológicas e farmacológicas em animais foram realizados quando da submissão dos pedidos de liberação comercial dos eventos individuais GlyTol e LibertyLink. Estudos de verificação de similaridade dos produtos de expressão do algodão GlyTol x LibertyLink com alérgenos conhecidos foram apresentados para os eventos individuais e segundo a requerente as proteínas 2mEPSPS e PAT não apresentam homologia com compostos tóxicos ou alergênicos.

V. Aspectos Ambientais

O gênero *Gossypium*, a qual o algodoeiro pertence, é constituído por 52 espécies sendo que somente quatro são cultivadas no mundo. Dentre estas quatro espécies (*Gossypium arboreum* L., *Gossypium herbaceum* L., *Gossypium hirsutum* L. e *Gossypium barbadense* L.), a produção da espécie *G. hirsutum* representa cerca de 90% do algodão mundialmente comercializado (LEE, 1984).

Como mencionado anteriormente o Brasil é o centro de origem de algumas espécies do gênero *Gossypium*. O *G. barbadense* tem ampla distribuição, ocorrendo basicamente em fundos de quintal, enquanto que o *G. hirsutum* da raça *marie galante* (algodoeiro mocó) foi muito cultivado no Nordeste na década de setenta, contudo se tornou selvagem após suas lavouras terem sido abandonadas.

Segundo avaliação de risco realizada pela requerente (FREIRE, 2012), com relação ao fluxo de pólen, as taxas do algodão transgênico para o convencional não devem diferir das taxas mensuradas nas cultivares convencionais, já que não existe nenhuma característica morfológica diferencial entre o algodoeiro GM e as cultivares convencionais. Algodoeiros com eventos combinados, através do melhoramento genético clássico, não resultam em nenhum novo produto ou organismo que possa alterar a taxa de fluxo gênico mensurada para esta espécie.

Com relação ao algodão silvestre, a possibilidade de fluxo gênico com o algodão GM é remota devido ao isolamento espacial prevista para os cultivos comerciais (distribuídos nas lavouras de alta tecnologia do cerrado) em áreas reconhecidamente isentas de tipos silvestres (FREIRE, 2000). Mesmo existindo total compatibilidade sexual entre as espécies tetraplóides de algodão, *G. hirsutum* e *G. barbadense*, o maior impedimento para o cruzamento entre as espécies perenes (silvestres) e anuais (cultivadas) é a diferença de ciclo e a não coincidência dos períodos de floração. Caso o fluxo gênico ocorra, este não afeta o genoma da planta receptora, já que os alelos recebidos pela fecundação cruzada são inseridos apenas na progênie (ou seja, nas sementes, que são colhidas com as plumas) e não existirá vantagem adaptativa em relação às outras variedades, uma vez que os tratamentos culturais do algodoeiro silvestre incluem capina manual, com cultivos em pequenas áreas.

A requerente argumenta ainda que a alteração no padrão e na distribuição de variedades silvestres num dado ambiente, em consequência de uma transferência genética, deve ser analisada considerando os vários atributos que podem ser incorporados. Muitos caracteres presentes em variedades modernas de algodão convencional, tais como resistência à doenças, alta produtividade e produção de ramos frutíferos, poderiam favorecer a capacidade adaptativa e de sobrevivência das espécies silvestres e levar à sua maior abrangência em determinadas regiões, pois o fator de seleção independe de um fator controlável pelo homem. No caso das características de seletividade a

herbicidas, estas não devem ser consideradas como fatores de seleção fundamentais que permitam vantagem adaptativa da variedade geneticamente modificada em relação às outras variedades. Com relação ao cruzamento com plantas daninhas, nas condições brasileiras as regiões de cultivo com algodão não apresentam qualquer planta daninha que seja sexualmente compatível com as espécies de *Gossypium* cultivadas.

Considerando que estudos realizados nas liberações planejadas demonstraram que a presença dos genes *bar* e *2mepsps* no algodão GTxLL não alterou significativamente nenhuma característica fenotípica, relacionadas aos estádios fenológicos ao longo do ciclo ou os parâmetros de crescimento e, considerando ainda, os dados da literatura sobre fluxo gênico e introgressão de genes em algodoeiro, não se evidencia nenhuma característica que poderia tornar o algodão GM mais invasivo do que as linhagens convencionais.

As análises por *Southern blot* demonstram haver o mesmo padrão de bandas do algodão combinado GTxLL com os eventos individuais GHB614 e LLCotton25. As análises realizadas demonstraram que a estrutura do inserto, sua localização e estabilidade não foram alteradas pela combinação. Tanto os tamanhos quanto os números de fragmentos observados nas análises de hibridização do DNA, corresponderam aos resultados esperados (MOENS, 2010)

A expressão das proteínas 2mEPSPS e PAT em folhas, sementes (amêndoa) e botão floral no algodão GTxLL foi avaliada em comparação aos genitores. As plantas foram cultivadas em estufa e o material foi coletado, as proteínas PAT e 2mEPSPS extraídas e quantificadas por ELISA (THOMPSON, 2009). Considerando que na análise realizada foram verificadas diferenças na expressão das proteínas do evento combinado quando comparado aos genitores, foi solicitado, em pedido de diligência, que a requerente analisasse e discutisse criticamente os potenciais riscos à biossegurança, considerando que a avaliação da expressão das proteínas foi um estudo proposto para demonstrar a inexistência de interação entre as proteínas expressas no evento combinado. Na resposta à diligência, a requerente apresenta a seguinte argumentação:

- Que variações na expressão gênica, conseqüentemente no teor de proteínas quantificáveis, são altamente dependentes de uma série de fatores, tais como idade do tecido analisado, sanidade, condições ambientais (temperatura, radiação, umidade), entre outros (FLORIS et al., 2009).
- Que potenciais diferenças no nível de expressão podem ser esperadas entre eventos combinados e individuais, uma vez que isso também ocorre nos cruzamentos convencionais entre variedades não-GM, como conseqüência da diferença de germoplasma (background genético). Da mesma forma, a expressão dos transgenes também pode mudar quando estes são inseridos em diferentes background genético (EFSA, 2007; De SCHRIJVER et al., 2007). O algodão GTxLL foi oriundo do cruzamento genético entre as variedades FM958 e FM981, que apresentam distintas bases genéticas, que por conseqüência, podem explicar uma possível variação no padrão de expressão das proteínas 2mEPSPS e PAT quando comparadas entre os genitores;
- Que a hipótese de interação entre os insertos não pode ser analisada com base em um único parâmetro. Tal avaliação deve ser feita de forma conjunta, levando em consideração outros dados como as análises fenotípicas;
- Que em outro estudo realizado pela requerente para quantificação da proteína 2mEPSPS em tecidos foliares de diferentes idades (ROBINSON, 2011), os resultados mostram uma grande sobreposição entre a amplitude dos valores mensurados, comparando-se o algodão GTxLL e seus genitores.

A requerente apresentou o resultado de estudo realizado em Santo Antonio do Leste, MT e em São Desidério, BA (FREIRE, 2012), onde não foram detectadas diferenças estatísticas entre as características fenológicas, morfológicas, e componentes da produção, entre o algodoeiro não modificado, os eventos individuais GlyTol e LibertyLink e o evento combinado GTxLL. Os parâmetros avaliados indicaram que a combinação dos eventos individuais, por cruzamento e seleção, não alterou a especificidade dos genes e não resultou em efeitos pleiotrópicos ou epistáticos.

Foram analisados os parâmetros de umidade, proteína bruta, lipídeos, cinzas, carboidrato, fibra, minerais, vitaminas e antinutrientes, comparando-se amostras do algodão GTxLL com o genitor e com o algodão não modificado. Na comparação dos dados do algodão GTxLL em relação aos genitores GHB614 e LLCotton25, os resultados mostraram que existem algumas diferenças entre as médias para os compostos cinzas, cálcio, α -tocoferol, gossipol livre, gossipol total, ácido fítico, ácido dihidrosterculico e potássio. As diferenças médias estimadas se encontram dentro da amplitude de variação para as variedades comerciais de algodão descritas na literatura (OECD, 2004; ILSI Crop Composition database).

VI. Restrições ao uso do OGM e seus derivados

A análise dos dados sobre biossegurança alimentar e ambiental do algodão GlyTol x LibertyLink (GTxLL) – evento GHB614 x LLCotton25 mostraram esse algodão é equivalente ao algodão convencional e as referências comerciais. Adicionalmente, não há evidência de reações adversas ao uso do algodão GlyTol x LibertyLink (GTxLL) – evento GHB614 x LLCotton25. Por essas razões, não existem restrições ao uso deste algodão ou de seus derivados seja para alimentação humana ou de animais.

VII. Considerações sobre particularidades das diferentes regiões do País (subsídios aos órgãos de fiscalização):

As zonas de restrição ao plantio de algodão geneticamente modificado (Anexo da Portaria MAPA nº 21/2005), deste evento GlyTol x LibertyLink (GTxLL) – evento GHB614 x LLCotton25 e de outras transformações, devem ser rigorosamente observadas pelos órgãos de fiscalização, tanto no comércio de sementes em tais áreas, quanto na orientação técnica e monitoramento da empresa requerente.

VIII. Conclusão

Considerando que:

- a variedade de algodão (*Gossypium hirsutum*) evento GHB614 x LLCotton25 pertence a espécie bem caracterizada e com sólido histórico de segurança para consumo humano;
- as proteínas PAT e 2mEPS, que conferem, respectivamente, tolerância ao herbicida glufosinato de amônio e ao glifosato, são expressas em vários eventos de diferentes culturas agrícolas já submetidos à avaliação de risco e aprovados para uso comercial em diversos países;
- os genitores, evento GHB614 e evento LLCotton25, foram submetidos à análise da avaliação de risco pela CTNBio e obtiveram parecer favorável para sua liberação comercial;

A CTNBio conclui, através da maioria de seus membros, que essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou de agravos à saúde humana e animal. As restrições ao uso do OGM em análise e seus derivados estão condicionadas ao disposto na Portaria 21/05 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

No âmbito das competências que lhe são atribuídas pelo art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que o pedido atende as normas e as legislações vigentes que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal, e concluiu que o algodão GlyTol x LibertyLink (GTxLL) – evento GHB614 x LLCotton25, é substancialmente equivalente ao algodão convencional, sendo seu consumo seguro para a saúde humana e animal. No tocante ao meio ambiente, A CTNBio concluiu que o algodão GlyTol x LibertyLink (GTxLL) – evento GHB614 x LLCotton25 não é potencialmente causador de significativa degradação do meio ambiente, guardando com a biota relação idêntica ao algodão convencional.

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

IX. Referências Bibliográficas

- BARROSO, P. A. V.; FREIRE, E. C.; AMARAL, J. A. B. do; SILVA, M. T. 2005. Zonas de exclusão de algodoeiros transgênicos para preservação de espécies de *Gossypium* Nativas ou naturalizadas. Campina Grande: Embrapa Algodão, 7 p. (Comunicado Técnico, 242).
- BETZ FS, HAMMOND BG, FUCHS RL (2000) Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 32:156-173.
- Biotechnology Industry Organization (<http://www.biotradestatus.com>).
- BOULANGER J.; PINHEIRO D. 1972. Conseqüências genéticas da evolução da cultura algodoeira do Nordeste do Brasil. *Pesquisas Agropecuárias no Nordeste*, v.4, n.1, p.5-52.
- CRAVEN, L.A.; STEWART, J. MCD; BROWN, A.H.D.; GRACE, J.P. The Australian wild species of *Gossypium*. In: *Proceedings of the world cotton research conference*, 1. Brisbane, Australia. Challenging the future. P. 278-281. 1994.
- Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio. Parecer Técnico nº 2754/2010 - Liberação Comercial de Algodão Geneticamente Modificado Tolerante a Herbicidas Denominado GHB614 (Algodão GlyTol®). Publicado no D.O.U de 27/12/2010, Seção 1, página 46.
- Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio. Parecer Técnico nº 1521/2008 - Liberação Comercial de Algodão Geneticamente Modificado Tolerante a Herbicida Evento LLCotton25. Publicado no D.O.U de 04/09/2008, Seção 1, página 6.
- De SCHRIJVER, A.; DEVOS, Y.; Van de BULCKE, M.; CADOT, P.; De LOOSE, M.; REHEUL, D.; SNEYERS, M. Risk assessment of GM stacked events obtained from crosses between GM events. *Trends in Food Science & Technology*, v.18, p.101-109, 2007.
- EFSA. European Food Safety Authority. Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events, the EFSA Journal v.512, p.1-5. 2007.
- FLORIS, M. MAHGOUB, H. LANET, E.; ROBAGLIA, C.; MENAND, B.; Post-transcriptional Regulation of Gene Expression in Plants during Abiotic Stress. *Int. J. Mol. Sci.*, v.10, p.3168-3185. 2009.
- 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.; 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.
- FREIRE, E. Avaliação dos aspectos reprodutivos e de sobrevivência dos Eventos combinados GlyTol x LibertyLink efetuadas no cerrado do Brasil durante a safra 2010/11. Bayer CropScience. Relatório Interno, 24p, 2012.
- FRYXELL, P.A. 1979. The natural history of the cotton Tribe Malvaceae (Tribe Gossypieae). Texas A&M University Press, College Station.
- FRYXELL, P.A., CRAVEN, L.A. E STEWART, J.MCD. 1992. A revision of *Gossypium* Sect. *Grandicalyx* (Malvaceae) including the description of six new species. *Systematic Botany*, v.17, n.1, p.91-114.
- GRUYS, K. J.; SIKORSKI, J. A.; Inhibitors of Tryptophan, Phenylalanine and Tyrosine Biosynthesis as Herbicides, Dekker: New York, 1999.

- ILSI (International Life Sciences Institute). http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database
- IBGE 2012. http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2065&id_pagina=1
- Japan: Assessment report of GHB614xLLCotton 25 for Importing and Processing. (http://www.bch.biodic.go.jp/download/en_lmo/GHB614_LLcotton25enRi.pdf)
- KOWITE, W.J. Comparative assessment of agronomic characteristics of combined transgenic event GlyTolxLibertyLink cotton from multiple field trials. USA. Bayer CropScience, Internal Report, 57p, 2009.
- LEBRUN M., SAILLAND A., Freyssinet G. 1997. Mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene encoding for said protein and transformed plants containing said gene. International patent publication WO 97/04103-A2. 06.02.97. 25 pages.
- 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.
- LEITE, D. S.; SILVA, I.T.G.; ALMEIDA, D.A.; RIBEIRO, P.G.; CIAMPI;A.Y.; AZEVEDO; V.C.R. Fluxo Gênico Entre *Gossypium Barbadosense* E *Gossypium Hirsutum* Da Região Do Distrito Federal E Entorno. IN: *CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7., 2009, Foz do Iguaçu. Sustentabilidade da cotonicultura Brasileira e Expansão dos Mercados: Anais... Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009. p. 1704-1708.*
- MOENS, S. Stability analysis of cotton combined events GHB614xLLCotton 25. USA. Bayer CropScience, Internal Report, 18p, 2010.
- OECD. (Organization for Economic Co-operation and Development). CONSENSUS DOCUMENT ON THE BIOLOGY OF COTTON (*Gossypium* spp.) ENV/JM/FOOD(2008)33. France. 64p. 2008.
- 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. ENV/JM/FOOD(2004)16. France. 32p. 2004.
- OECD. (Organization for Economic Co-operation and Development). CONSENSUS DOCUMENT ON GENERAL INFORMATION CONCERNING THE GENES AND THEIR ENZYMES THAT CONFER TOLERANCE TO PHOSPHINOTHRICIN HERBICIDE. ENV/JM/MONO(99)13. France. 26p.1999.
- OECD. (Organization for Economic Co-operation and Development). CONSENSUS DOCUMENT ON GENERAL INFORMATION CONCERNING THE GENES AND THEIR ENZYMES THAT CONFER TOLERANCE TO GLYPHOSATE HERBICIDE. ENV/JM/MONO(99)9. France. 26p.1999.
- PENNA, J.C.V. Melhoramento de algodão. *Inc: Melhoramento de espécies cultivadas*. Borém, A (Ed.) Viçosa; Ed. UFV.p. 15-53.2005.969p.
- ROBINSON, T.D. Expression of 2mEPSPS protein in young and mature leaves from GlyTolTM and GlyTolTMxLLCotton25 grown in the greenhouse. USA. Bayer CropScience, Internal Report, 29p, 2011.
- SMITH, C.W.; COTHREN, J. T., eds. Cotton: Origin, History, Technology, and Production, p. 175-206. John Wiley and Sons, Inc., 1999.
- THOMPSON, D.M. Protein expression analysis for the combined cotton event GlyTolxLLCotton25 and its parents GlyTol and LLCotton25. USA. Bayer CropScience, Internal Report, 45p, 2009.
- 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.

Flavio Finardi Filho
Presidente da CTNBio

Liana Braga
Assessora Técnica

Voto divergente:

A CTNBio decidiu por dezesseis votos favoráveis pela aprovação, três votos contrários do Dr. José Maria Ferraz (Especialista em Meio Ambiente indicado pelo Ministério do Meio Ambiente), Dr^a. Solange Teles (Especialista em Defesa do Consumidor indicado pelo Ministério da Justiça) e Dr. Leonardo Melgarejo (Representante do Ministério do Desenvolvimento Agrário) e uma abstenção da Dra. Suzi Barletto Cavalli, (Representante da Agricultura Familiar) ficando aprovada a liberação comercial do algodão geneticamente modificado tolerante ao herbicida glufosinato de amônio e ao herbicida glifosato denominado GlyTol x LibertyLink (GTxLL)– evento GHB614 x LLCotton25

Voto Vencido:

O relator Dr. José Maria Gusman Ferraz emitiu parecer contrário à aprovação deste produto por considerar que os resultados dos estudos de expressão das proteínas não foram efetuados nos experimentos em condições brasileiras onde vai ocorrer a liberação comercial, portanto pode ocorrer expressão da proteína além do limite estabelecido, necessitando apresentar estudos que demonstrem ou não esta possibilidade. Os dados fenotípicos apresentados nos dados de campo não ajudam a elucidar a expressão desta proteína.