



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Soja genéticamente modificada MST-FGØ72-2, la cual posee tolerancia a los herbicidas glifosato e isoxaflutole, y soja GM MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 (resultado del cruzamiento convencional de los eventos individuales MST-FGØ72-2 y ACS-GM006-4), la cual posee tolerancia a los herbicidas glifosato, isoxaflutole y glufosinato de amonio, presentadas por Bayer S.A. El presente Documento de Decisión incluye a la soja GM MST-FGØ72-2, a la soja GM MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de estos materiales con cualquier soja no GM obtenida en forma convencional.

Sobre la base del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico disponible, los suscriptos, miembros de la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) y de la Dirección de Biotecnología acuerdan en dar por finalizada la Segunda Fase de Evaluación de las sojas genéticamente modificadas (GM) MST-FGØ72-2 y MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4. De esta evaluación se concluye que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación de las mencionadas sojas GM al agroecosistema, en cultivo a gran escala, no difieren significativamente de los inherentes al cultivo de soja no GM.

La soja MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 que contiene la acumulación de dos eventos de transformación, individualmente denominados MST-FGØ72-2 y ACS-GM006-4, fue obtenida mediante cruzamiento convencional de los parentales conteniendo los eventos de transformación en forma separada. Por su parte, el evento ACS-GM006-4 obtuvo aprobación comercial en Argentina en el año 2011.

La soja GM MST-FGØ72-2 ha sido ensayada a campo en Argentina desde 2001 y la soja MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 ha sido ensayada a campo desde 2012. Para tal fin fueron correspondientemente evaluadas por la CONABIA SIETE (7) y CUATRO (4) solicitudes de permisos, para experimentación y/o liberación confinada al agroecosistema que han cumplido con la normativa vigente para los OVG, y han sido autorizadas por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP).



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

El presente Documento de Decisión incluye a la soja GM MST-FGØ72-2, a la soja GM MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de estos materiales con cualquier soja no GM obtenida en forma convencional.

I. ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

1. Nombres común y científico: Soja, *Glycine max* (L.) Merrill.

2. Denominación de los eventos:

- MST-FGØ72-2
- MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas

Evento MST-FGØ72-2

El evento de soja MST-FGØ72-2 confiere tolerancia a los herbicidas glifosato e isoxaflutole, otorgada por los productos de expresión de los genes *2mepsps* (2mEPSPS) y *hppdPfw336* (HPPD W336), respectivamente.

Las actividades de las proteínas 2mEPSPS y HPPD W336 quedaron evidenciadas en estudios de comportamiento agrofenotípico llevado a cabo en Estados Unidos y Argentina (Sección II 5.1.) y los estudios de composición centesimal (Sección II 4).

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

El evento de soja MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 confiere tolerancia a los herbicidas glufosinato de amonio (proteína PAT, evento ACS-GM006-4), glifosato (proteína 2mEPSPS, evento MST-FGØ72-2) e isoxaflutole (proteína HPPD W336, evento MST-FGØ72-2). Estas características quedaron evidenciadas en los estudios agrofenotípicos realizados en Argentina y Estados Unidos (Sección II 5.1.) y en el estudio composicional (Sección II 4).

3.1. Descripción de los herbicidas

El glifosato es un herbicida sistémico de amplio espectro y no residual. Actúa inhibiendo la enzima cloroplástica 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), la cual se encuentra involucrada en la ruta bioquímica del corismato y compuestos derivados (aminoácidos aromáticos, entre otros). De esta manera, el tratamiento con



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

glifosato priva a las plantas de aminoácidos esenciales y de metabolitos secundarios, como el tetrahidrofolato, la ubiquinona y la vitamina K, necesarios para el crecimiento y normal desarrollo de la planta.

El glufosinato de amonio es un herbicida principalmente de contacto, no residual y de amplio espectro. Este inhibe la actividad de la enzima glutamino sintetasa, compitiendo con el glutamato (sustrato natural) por el sitio activo, lugar donde ocurre la condensación de glutamato con amoníaco para dar glutamina. Esta inhibición evita la síntesis de L-glutamina, que no sólo es un precursor químico importante para la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, sino que además funciona como mecanismo para la incorporación de amoníaco en plantas. El tratamiento con glufosinato de amonio provoca la acumulación de amoníaco y el cese de la fotosíntesis.

El isoxaflutole es un herbicida sistémico que controla malezas latifoliadas y gramíneas anuales. Es absorbido principalmente por las raíces, coleóptilo (gramíneas) e hipocótilo (latifoliadas) y se transloca vía apoplasto al resto de la planta. Actúa como inhibidor de la síntesis de carotenos al bloquear la actividad de la enzima 4 hidroxifenil piruvato dioxigenasa (HPPD). Esto impide la pigmentación en los cotiledones y/o hojas nuevas que, en estas condiciones, serán incapaces de fotosintetizar. Este herbicida puede tener alta residualidad en el suelo.

La tolerancia a tres herbicidas con modos de acción diferentes en el evento acumulado representa una alternativa para retrasar la evolución de la resistencia de malezas en el cultivo de soja a través de la rotación con diferentes herbicidas.

3.2 Mecanismo de acción de los productos de expresión

Evento MST-FGØ72-2

La proteína 2mEPSPS, es una enzima homóloga a la EPSPS endógena de soja pero a diferencia de ésta, posee mayor afinidad por su sustrato (fosfoenolpiruvato) que por el herbicida, permitiendo que la síntesis del corismato y de los aminoácidos aromáticos continúe del mismo modo en que lo haría en ausencia del glifosato, siendo ésta la base para la tolerancia al herbicida.

La enzima HPPD W336 es una variante de la HPPD endógena de soja, fundamental en la ruta de síntesis de carotenoides, que por sus características



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

estructurales posee una menor afinidad por el herbicida isoxaflutole, un inhibidor de la actividad HPPD. Esta variante de HPPD hace que la planta sea tolerante al herbicida isoxaflutole manteniéndose fotosintéticamente activa en su presencia.

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

El mecanismo de acción de la proteína PAT presente en el evento ACS-GM006-4, responsable de conferir el fenotipo de tolerancia al herbicida glufosinato de amonio, fue evaluado en instancias de la solicitud de su liberación comercial resultando en un Documento de Decisión favorable.

La enzima fosfotransferasa acetil transferasa (PAT) cataliza específicamente la acetilación del herbicida glufosinato de amonio en su extremo N-terminal generando una molécula inactiva. Esto permite a la planta continuar con los procesos biológicos habituales. Es importante señalar que la enzima PAT no acetila a la molécula de glutamato, estructuralmente similar al glufosinato de amonio, lo cual denota una elevada especificidad.

Por su parte, los mecanismos de acción de las proteínas 2mEPSPS y HPPD W336 aportadas por el evento MST-FGØ72-2 fueron descriptos en el punto anterior (Sección I, punto 3.2.1.).

4. Modificaciones genéticas introducidas:

4.1. Método de obtención del OVG

Evento MST-FGØ72-2

El evento MST-FGØ72-2 fue obtenido por biobalística.



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

El evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 fue obtenido por cruzamiento convencional de las líneas parentales derivadas de los eventos MST-FGØ72-2 y ACS-GM006-4.

Por su parte, el evento parental ACS-GM006-4 fue obtenido por biobalística.

4.2. Secuencias introducidas en el evento

La información referente al evento ACS-GM006-4 ya fue evaluada oportunamente en instancias de la solicitud de liberación comercial del evento individual, resultando en un Documento de Decisión favorable.

Evento MST-FGØ72-2

A continuación se detallan las secuencias introducidas en el evento soja MST-FGØ72-2 que originalmente se encuentran de la siguiente manera en el plásmido pSF10.

Elemento Genético	Descripción	Función
3'nos	Secuencia terminadora: secuencia que incluye la region 3' no traducida del gen de nopalina sintasa del ADN-T de pTIT37 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .	Región 3' no traducible que finaliza la transcripción del gen <i>hppdPfw336</i> .
<i>hppdPfw336</i>	Secuencia codificante de la 4-hidroxyfenilpiruvato dioxigenasa de <i>Pseudomonas fluorescens</i> modificada. Reemplazo del aminoácido Glicina 336 por Triptofano.	Su producto de expresión confiere tolerancia a herbicida isoxaflutole.
TPotpY	Secuencia que incluye un derivado del péptido de tránsito optimizado de <i>Helianthus annuus</i> y <i>Zea mays</i> .	Dirigen a la proteína HPPD W336 a plásmido.
TEV	Activador de la transcripción del plásmido pRTL-GUS proveniente del virus del grabado del Tabaco (TeV, del inglés <i>Tobacco Etch Virus</i>).	Activador de la transcripción de <i>hppdPfw336</i> .
ph4a748At ABBC	Promotor (ABC) del gen de la histona H4 de <i>Arabidopsis thaliana</i> con duplicación de la parte B.	Promotor que dirige la expresión del gen <i>hppdPfw336</i> .
Ph4a748 ABC	Promotor(ABC) del gen de la histona H4 de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Promotor que dirige la expresión del gen <i>2mepsps</i> .



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Intron1 h3At	primer intrón del gen II de la variante H3.III de histona de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Activador transcripcional del gen <i>2mepsps</i> .
TPotp C	secuencia que codifica para el péptido de tránsito optimizado de <i>Zea mays</i> y <i>Helianthus annuus</i> .	Dirigen a la proteína 2mEPSPS a plástido.
2mepsps	Secuencia codificante del gen de la 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintasa de <i>Zea mays</i> , con una doble mutación.	Su producto de expresión confiere tolerancia glifosato de amonio.
3'histonAt	Secuencia terminadora. Incluye la región 3' no traducida del gen de la histona H4 de <i>Arabidopsis thaliana</i>	Región 3' no traducible que finaliza la transcripción del gen <i>2mepsps</i> .

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

Las secuencias introducidas en el evento soja MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 no difieren de las detalladas para los eventos individuales.

4.3. Número de copias, integridad y/o rearrreglos dentro del inserto.

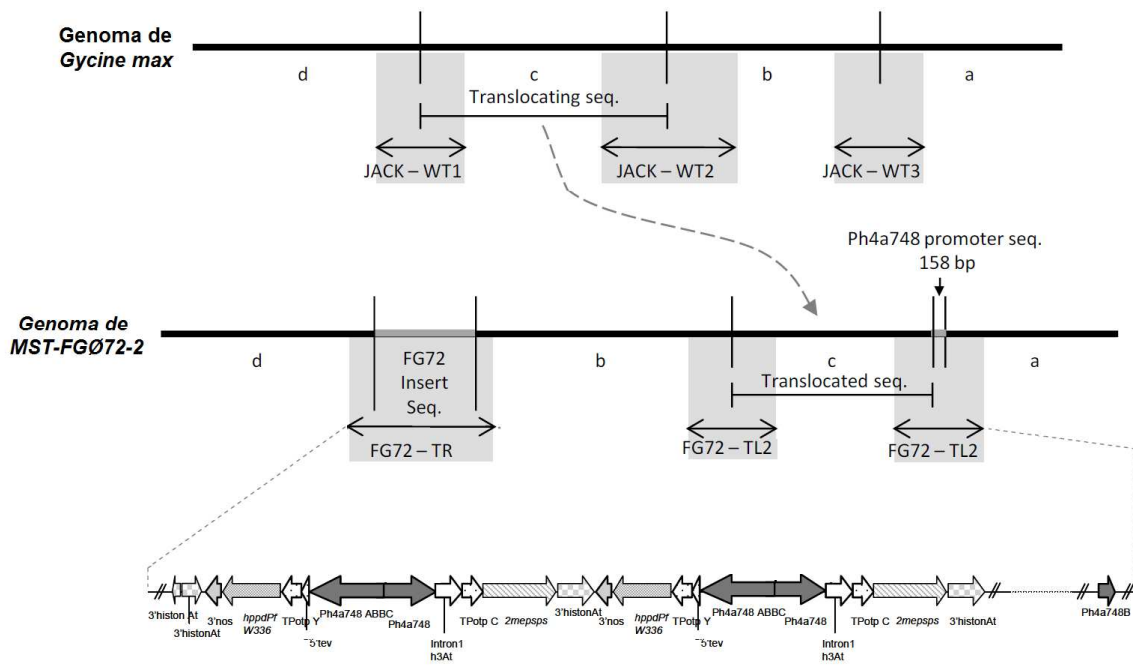
Evento MST-FGØ72-2

Los genes y sus secuencias regulatorias, así como los elementos adicionales detallados más arriba para el evento MST-FGØ72-2, se encuentran formando parte de un único inserto, el cual se comporta como un locus único.

El análisis molecular confirmó que hay dos copias consecutivas y en el mismo sentido del fragmento que contiene la construcción genética del plásmido pSF10 a la que se le anteponen dos fragmentos de la secuencia terminadora *3'histonAt* orientadas en sentido opuesto. Por otro lado, producto de la integración del inserto MST-FGØ72-2 en el genoma de la soja, parte del genoma se traslocó quedando unida en su región 3' un fragmento de 158 pb perteneciente a la secuencia promotora *Ph4a748* de la construcción. La integridad del inserto fue verificada mediante *Southern blot* y secuenciación de Sanger. A su vez, se confirmó la ausencia de secuencias estructurales del vector que no debían transferirse al genoma del evento MST-FGØ72-2.



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor



Fuente: Bayer S.A.

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

La soja GM MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 es el resultado del cruzamiento convencional de variedades de soja conteniendo los eventos individuales MST-FGØ72-2 y ACS-GM006-4. Se demostró por medio de análisis de *Southern blot* que durante la obtención del evento acumulado por cruzamiento convencional los insertos provenientes de los eventos parentales conservaron su locus en el genoma.

4.4. Regiones flanqueantes a los insertos

Evento MST-FGØ72-2

La caracterización del sitio único de inserción muestra que el locus FG72, del evento MST-FGØ72-2, se localiza en el cromosoma 15.

Por otro lado, se identificaron tres promotores hipotéticos cuyas secuencias son interrumpidas por la integración, sin embargo no se encontró evidencia de interrupción de secuencias codificantes de genes funcionales endógenos ni de marcos de lectura



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

abiertos (ORFs) luego de la transformación. Sumado a ello, se comprobó que el inserto no ha generado cambios fenotípicos ni diferencias en el comportamiento agronómico de la soja MST-FGØ72-2, en comparación con la variedad convencional.

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4:

Dado que el evento acumulado se obtuvo mediante cruzamiento convencional y que los insertos provenientes de los eventos parentales se mantuvieron íntegros y conservaron su locus en el genoma, no se espera que las regiones flanqueantes hayan cambiado en el evento acumulado.

5. Detección de los eventos.

Métodos moleculares:

La presencia de cada uno de los eventos parentales puede ser determinada experimentalmente mediante técnicas moleculares de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando muestras de semilla/grano, forraje o todo subproducto que contenga ADN de soja con un mínimo grado de integridad que permita su amplificación. Para el evento acumulado, el método se basa en la detección de la presencia simultánea de cada uno de los eventos parentales a partir de ADN extraído de una única muestra biológica.

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Estabilidad genética y fenotípica

Evento MST-FGØ72-2

El evento de soja MST-FGØ72-2 es estable genética y fenotípicamente. La estabilidad genética fue testeada por medio de ensayos de *Southern blot* a lo largo de 3 generaciones.

El locus FG72 del evento MST-FGØ72-2 se transfiere a la progenie siguiendo un patrón mendeliano simple.



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Por otro lado, se comprobó la estabilidad fenotípica del evento MST-FGØ72-2 en los ensayos de comportamiento agrofenotípico (ver sección II 5.1.), composición centesimal (ver sección II 4) y niveles de expresión de proteínas (ver sección II 2). A su vez, la estabilidad fenotípica de tolerancia a glifosato fue corroborada en tres generaciones mediante la aplicación de dicho herbicida durante las sucesivas autofecundaciones realizadas para el estudio de segregación.

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

La soja MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 es el resultado del cruzamiento convencional de variedades de soja conteniendo los eventos individuales MST-FGØ72-2 y ACS-GM006-4. Se demostró por medio de análisis de *Southern blot* que durante la obtención del evento acumulado por cruzamiento convencional los insertos provenientes de los eventos parentales se mantuvieron íntegros y conservaron su locus en el genoma. Sumado a ello, el evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 ha probado ser tolerante a los herbicidas glifosato, glufosinato e isoxaflutole conservando las características fenotípicas heredadas de sus parentales.

2. Productos de expresión de los genes introducidos

Evento MST-FGØ72-2

Los niveles de expresión de las proteínas HPPD W336 y 2mEPSPS fueron determinados mediante la técnica de ELISA en raíces, tallos, hojas y semillas del evento de soja MST-FGØ72-2 y de la variedad no genéticamente modificada en distintos momentos del desarrollo de las plantas (Tablas 1 y 2).

Para realizar dicha determinación, las plantas portadoras del evento MST-FGØ72-2 y su contraparte no GM fueron cultivadas bajo condiciones de invernadero. En ambos casos se tomaron muestras de hojas en tres estadios del desarrollo (V4, V6 y V8), de tallo y raíz en dos estadios de desarrollo (V4 y V8) y semillas. No se detectaron las proteínas mencionadas en los tejidos del control isogénico.

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

Para determinar los niveles de expresión de las proteínas 2mEPSPS, HPPD W336 y PAT se tomaron muestras durante el año 2012 en localidades de Estados Unidos que



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

representan producción comercial del grupo de madurez 2-3 (Tablas 1, 2 y 3) y fueron analizadas mediante la técnica de ELISA.

Tabla 1. Cantidades promedio ($\mu\text{g/g} \pm \text{SD}$) y rango de HPPD W336 en el evento acumulado soja MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4, y en el evento simple soja MST-FGØ72-2.

MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4						MST-FGØ72-2					
Estadio de crecimiento	Matriz de muestra	Peso Fresco $\mu\text{g/g}$		Peso Seco $\mu\text{g/g}$		Matriz de muestra	Estadio de crecimiento	Peso Fresco $\mu\text{g/g}$		Peso Seco $\mu\text{g/g}$	
		media \pm SD	Rango	media \pm SD				media \pm SD	Rango	media \pm SD	Rango
V5 a V6	Hoja	5.34 \pm 4.3	0.392 - 15.6	30.4 \pm 25	2.58 - 69.0	Hoja	V4	6.10 \pm 2.78	2.65 - 10.4	38.4 \pm 17.5	16.7 - 65.7
	Raíz	0.427 \pm 0.23	0.202 - 1.01	2.37 \pm 1.4	1.16 - 4.81		V6	6.48 \pm 4.08	2.31 - 17.4	35.8 \pm 22.5	12.8 - 96.0
R3	Hoja	10.2 \pm 11	0.586 - 42.5	60.4 \pm 65	3.85 - 192		V8	4.69 \pm 1.87	2.00 - 8.91	27.2 \pm 10.9	11.6 - 51.8
	Forraje	5.61 \pm 2.3	1.29 - 11.4	33.1 \pm 14	7.20 - 62.4	Tallo	V4	1.48 \pm 0.42	0.74 - 2.20	16.6 \pm 4.65	8.29 - 24.6
Madurez	Semilla	0.654 \pm 0.27	0.229 - 1.26	0.728 \pm 0.30	0.291 - 1.17		V8	0.69 \pm 0.35	0.29 - 1.49	6.04 \pm 3.10	2.49 - 13.0
						Raíz	V4	0.87 \pm 0.35	0.45 - 1.66	5.81 \pm 2.30	2.98 - 11.0
							V8	0.84 \pm 0.50	0.20 - 1.64	6.42 \pm 3.82	1.51 - 12.4
						Semilla	Madurez	1.27 \pm 0.42	0.71 - 2.68	1.41 \pm 0.47	0.79 - 2.96

Fuente: Bayer S.A.

Tabla 2. Cantidades promedio ($\mu\text{g/g} \pm \text{SD}$) y rango de 2mEPSPS en el evento acumulado soja MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4, y en el evento simple soja MST-FGØ72-2.



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4						MST-FGØ72-2					
Estado de crecimiento	Matriz de muestra	Peso Fresco µg/g		Peso Seco µg/g		Matriz de muestra	Estadio de crecimiento	Peso Fresco µg/g		Peso Seco µg/g	
		media ± SD	Rango	media ± SD	Rango			media ± SD	Rango		
V5 a V6	Hoja	337 ± 190	123 - 742	1,940 ± 1,200	763 - 4,190	Hoja	V4	90.4 ± 26.1	44.9 - 152	569 ± 164	283 - 958
	Raíz	35.3 ± 5.4	26.1 - 46.3	194 ± 33	146 - 254		V6	79.1 ± 29.6	39.2 - 136	437 ± 163	216 - 753
R3	Hoja	354 ± 170	162 - 711	2,090 ± 1,200	1,000 - 4,280		V8	115 ± 38.2	60.5 - 203	668 ± 222	351 - 1180
	Forraje	140 ± 27	75.9 - 175	822 ± 170	402 - 1,030	Tallo	V4	18.8 ± 6.16	6.08 - 31.3	211 ± 68.9	68.0 - 350
Madurez	Semilla	234 ± 37	155 - 305	259 ± 44	178 - 322		V8	13.4 ± 2.62	8.71 - 17.3	117 ± 22.9	76.1 - 151
						Raíz	V4	4.89 ± 1.99	1.63 - 8.21	32.5 ± 13.2	10.8 - 54.5
							V8	5.75 ± 2.31	2.62 - 10.7	43.7 ± 17.6	19.9 - 81.2
						Semilla	Madurez	2.37 ± 0.75	1.34 - 3.74	2.62 ± 0.83	1.48 - 4.13

Fuente: Bayer S.A.

Tabla 3. Cantidades promedio (µg/g ± SD) y rango de PAT/*pat* en el evento acumulado soja MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4, y en el evento simple soja ACS-GM006-4.

MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4						ACS-GM006-4		
Estado de crecimiento	Matriz de muestra	Peso Fresco µg/g		Peso Seco µg/g		Matriz de muestra	Matriz de muestra	Peso Fresco µg/g
		media ± SD	Rango	media ± SD	Rango			media ± SD
V5 a V6	Hoja	14.8 ± 2.6	9.41 - 20.7	84.3 ± 20	50.9 - 110	Hoja	V3	18.40 ± 6.50
	Raíz	10.6 ± 1.4	7.54 - 14.1	58.1 ± 6.5	46.0 - 66.6		V8	26.22 ± 9.87
R3	Hoja	17.7 ± 4.6	8.98 - 24.1	101 ± 19	65.4 - 133	Tallo	V3	39.18 ± 3.04
	Forraje	12.7 ± 2.5	7.44 - 16.7	74.8 ± 18	41.0 - 96.7		V8	13.85 ± 6.12
Madurez	Semilla	18.0 ± 5.6	9.74 - 33.7	19.7 ± 6.0	11.6 - 33.8	Raíz	V3	8.16 ± 2.50
							V8	3.60 ± 0.42

Fuente: Bayer S.A.



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

Las proteínas HPPD W336, 2mEPSPS y PAT fueron detectadas en todos los tejidos de las muestras analizadas pertenecientes al evento acumulado y en sus respectivos parentales, según corresponda. No se detectaron las proteínas mencionadas en los tejidos del control isogénico en ninguna de las localidades ensayadas. El nivel de expresión observado para las proteínas HPPD W336 y PAT es comparable entre los eventos parentales y el evento acumulado. Por otro lado el nivel de expresión de la proteína 2mEPSPS es mayor en el evento acumulado MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 que en el evento simple MST-FGØ72-2 (tabla 2). No obstante, el nivel de expresión observado para la proteína 2mEPSPS se encuentra dentro del rango de expresión presentado por otros eventos GM que ya cuentan con aprobación comercial.

El análisis de los estudios agrofenotípico (Sección II.5.1.), composicional (Sección II.4) y molecular (Sección I) en conjunto, para los eventos MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 y MST-FGØ72-2, llevan a la conclusión de que es improbable que esta diferencia en el nivel de expresión de 2mEPSPS pueda resultar en un impacto adverso sobre el agroecosistema.

3. Análisis del potencial tóxico o alergénico

3.1. Productos de expresión

Evento MST-FGØ72-2

2mEPSPS

La proteína no mostró similitud de secuencia con toxinas conocidas (base de datos de Bayer 2014). Sólo se encontró similitud con otras proteínas EPSPS y con otras enzimas de varios organismos sin antecedentes de toxicidad por lo que se concluye que es muy poco probable que la proteína 2mEPSPS pueda presentar propiedades tóxicas.

La estabilidad fue estudiada en fluido gástrico e intestinal simulados (SGF y SIF). La proteína 2mEPSPS es degradada por pepsina a pH 1,2 dentro de los 30 segundos de incubación en SGF humanos. De manera similar, la proteína fue degradada rápidamente (menos de 30 segundos) por pancreatina a pH 7,5 en fluidos intestinales simulados. Por otro lado, la proteína 2mEPSPS se inactiva completamente tras 10 minutos a 60°C.



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Estos resultados tomados en conjunto conforman evidencia consistente para inferir que es altamente improbable que 2mEPSPS tenga características alergénicas o tóxicas.

HPPD W336

La proteína HPPD W336 no mostró similitud de secuencia con toxinas conocidas (base de datos de bayer 2014) por lo que se concluye que es muy poco probable que pueda presentar propiedades tóxicas.

La búsqueda global de homología en la base de datos pública de alérgenos Allergen Online (2014) no se identificó la existencia de homologías con alérgenos o con epítopes pertenecientes a alérgenos conocidos.

Su estabilidad fue estudiada en fluido gástrico e intestinal simulados (SGF y SIF). Más del 90% de HPPD W336 es degradada dentro de los 30 segundos en SGF (pH 1.2) conteniendo pepsina, minimizando las posibilidades de que fluya al intestino y sea absorbida. Aún en el caso que esto ocurriera, los estudios realizados en SIF muestran que HPPD W336 es degradada antes de los 30 segundos en estas condiciones. Por otro lado, la termoestabilidad de la proteína fue evaluada a diferentes temperaturas observándose una actividad casi nula tras 2,5 minutos a 60°C.

Estos resultados tomados en conjunto conforman evidencia consistente para inferir que es altamente improbable que HPPD W336 tenga características alergénicas o tóxicas.

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

PAT

La toxicidad, alergenicidad, termoestabilidad y digestibilidad de la proteína PAT fueron evaluadas oportunamente en instancias de la solicitud de liberación comercial de evento ACS-GM006-4, resultando en un Documento de Decisión favorable.

2mEPSPS y HPPD W336

El evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 es producto del cruzamiento convencional de los parentales previamente mencionados. Los productos expresados en el evento acumulado no difieren de los expresados en los eventos parentales por lo que no requieren de un análisis adicional.



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

3.2. Nuevos péptidos hipotéticos

Evento MST-FGØ72-22

El análisis bioinformático no identificó nuevos marcos de lectura abiertos que pudieran originar productos de expresión con similitud o identidad de secuencias con alérgenos, toxinas u otras proteínas con actividad biológica conocida.

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

Los estudios realizados en los sitios de integración del evento ACS-GM006-4 con el fin de determinar posible generación de nuevos ORF y/o nuevos péptidos hipotéticos, fueron evaluados oportunamente en instancias de su solicitud de liberación comercial, resultando en un Documento de Decisión favorable.

Por otro lado, debido a que el evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 fue obtenido por cruzamiento convencional, no existen razones para suponer que se puedan haber generado nuevos ORF.

4. Composición centesimal del OVGM

Evento MST-FGØ72-2

Se realizaron estudios composicionales comparativos entre el evento MST-FGØ72-2 con y sin aplicación de glifosato e isoxaflutole y su contraparte convencional. Se determinaron los niveles de diversos componentes en muestras de grano (R8), obtenidas de ensayos a campo realizados en 10 localidades de EE.UU. durante el año 2008. Además, con el objeto de analizar los resultados en el contexto de la variabilidad natural del cultivo de soja, se incluyeron 3 variedades comerciales no GM de referencia.



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

Se determinaron los niveles de proximales (humedad, lípidos, proteínas, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, carbohidratos y cenizas), aminoácidos, ácidos grasos, minerales, vitaminas, antinutrientes (inhibidores de tripsina, lectinas, ácido fítico, estaquinoso y rafinoso) e isoflavonas.

El análisis de equivalencia composicional mostró diferencias significativas para algunos analitos presentes entre MST-FGØ72-2 (con y sin aplicación de herbicidas) y su contraparte convencional. No obstante, todos los valores obtenidos estuvieron dentro del rango registrado para las variedades de referencia y/o dentro del rango de la literatura científica. Por lo tanto, las diferencias observadas no fueron consideradas biológicamente relevantes.

A los fines del presente documento estos resultados se consideran indicativos de la ausencia de efectos no esperados producto de la transformación genética.

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

Se realizaron estudios composicionales comparativos entre el evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 con y sin aplicación de glifosato, isoxaflutole y glufosinato de amonio y su contraparte convencional. Se determinaron los niveles de diversos componentes en muestras de forraje (R3) y grano (R8), obtenidas de ensayos a campo realizados en 8 localidades de EE.UU. durante el año 2012. Además, con el objeto de analizar los resultados en el contexto de la variabilidad natural del cultivo de soja, se incluyeron 6 variedades comerciales no GM de referencia.

Se determinaron los niveles de proximales (humedad, lípidos, proteínas, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, carbohidratos y cenizas), aminoácidos, ácidos grasos, minerales, vitaminas, antinutrientes (inhibidores de tripsina, lectinas, ácido fítico, estaquinoso y rafinoso) y isoflavonas en muestras de grano y proximales en muestras de forraje.

El análisis de equivalencia composicional mostró diferencias significativas para algunos analitos presentes en grano entre MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 y su contraparte convencional. No obstante, todos los valores obtenidos estuvieron dentro del



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

rango registrado para las variedades de referencia y/o dentro del rango de la literatura científica. Si bien para forraje no se hizo un análisis estadístico, los valores observados se encontraron dentro de todos los rangos. Por lo tanto, las diferencias observadas en ambos casos no fueron consideradas biológicamente relevantes.

A los fines del presente documento estos resultados se consideran indicativos de la ausencia de efectos no esperados que puedan resultar en un impacto adverso sobre el agroecosistema, producto de la posible interacción entre las nuevas proteínas expresadas.

5. Potencial para producir impactos en el agroecosistema

5.1. Comportamiento agrofenotípico

Evento MST-FGØ72-2

Se realizaron estudios agrofenotípicos comparativos entre el evento MST-FGØ72-2 (con y sin aplicación de glifosato e isoxaflutole) con su contraparte convencional, en:

- 6 localidades de Argentina bajo diversas condiciones ambientales, durante la campaña 2012-2013.
- 10 localidades de Estados Unidos bajo diversas condiciones ambientales, durante la campaña 2008. Con el objeto de analizar los resultados en el contexto de la variabilidad natural del cultivo de soja, se incluyeron 3 variedades comerciales no GM de referencia.

En ambos estudio, los parámetros evaluados fueron: días a emergencia, stand inicial de plantas, vigor de plántula, días a 50% de la floración, altura de la planta, número de nódulos, días a madurez, vuelco de la planta, dehiscencia de la vaina, stand final de plantas, porcentaje de humedad de la semilla, peso hectolítrico, rendimiento, color de la pubescencia, de la vaina, del hilo y de la flor, hábito de crecimiento, forma de la hoja, arquitectura del canopeo y características de la semilla (forma de la semilla, peso de 100 semillas, entre otros), índice de sanidad de la planta (V4-V5, R1-R2 y R8), susceptibilidad a plagas y enfermedades.

En el primer estudio se encontraron diferencias significativas entre la soja GM y su contraparte convencional en los siguientes parámetros: stand inicial y final de plantas, altura de la planta, días a madurez, rendimiento, vigor de planta e índice de sanidad (en V4-V5 y R1-R2).



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Por otro lado, en el estudio llevado a cabo en Estados Unidos se encontraron diferencias significativas en varios parámetros, sin embargo sólo los valores medios de sanidad de las plantas (V4-V5) y dehiscencia de vainas se encontraron por debajo de los rangos de referencia. Aún así, dichas diferencias, al igual que las del estudio realizado en Argentina, no presentaron una hipótesis de riesgo asociada y por lo tanto no se consideraron biológicamente relevantes.

MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

Se realizaron estudios agrofenotípicos comparativos entre el evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 (con y sin aplicación de glifosato, isoxaflutole y glufosinato de amonio) con su contraparte convencional, en:

- 6 localidades de Argentina bajo diversas condiciones ambientales, durante la campaña 2012-2013.
- 9 localidades de Estados Unidos bajo diversas condiciones ambientales, durante la campaña 2012. Con el objeto de analizar los resultados en el contexto de la variabilidad natural del cultivo de soja, se incluyeron 6 variedades comerciales no GM de referencia.

Los parámetros evaluados fueron: días a emergencia, stand inicial de plantas, vigor de plántula, días a 50% de la floración, altura de la planta, número de nódulos, días a madurez, vuelco de la planta, dehiscencia de la vaina, stand final de plantas, porcentaje de humedad de la semilla, peso hectolítrico, rendimiento, color de la pubescencia, de la vaina, del hilo y de la flor, hábito de crecimiento, forma de la hoja, arquitectura del canopeo, índice de sanidad de la planta (V4-V5, R1-R2 y R8), susceptibilidad a plagas y enfermedades en ambos estudios.

En el primer estudio se encontraron diferencias significativas entre la soja GM y su contraparte convencional en los siguientes parámetros: stand inicial y final de plantas, altura de la planta, días a madurez, vigor de planta y días a 50% de la floración.

Por otro lado, en el estudio llevado a cabo en Estados Unidos se encontraron diferencias significativas en vigor de plántula, dehiscencia de vainas a la madurez y 15 días luego de la madurez. Sin embargo, las diferencias encontradas, al igual que es estudio realizado en Argentina, no presentaron una hipótesis de riesgo asociada y por lo tanto no se consideraron biológicamente relevantes.



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Los resultados obtenidos en todos los estudios agrofenotípicos demostraron que los eventos MST-FGØ72-2 y MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4, objetos de la presente solicitud, exhiben un comportamiento agronómico equivalente a su contraparte convencional, excepto por las diferencias asociadas a las características intencionalmente introducidas.

Dada la similitud de las condiciones agroclimáticas entre las localidades de Estados Unidos donde se realizó el estudio y la región sojera argentina, y que la característica es tolerancia a herbicidas, se consideró que las conclusiones obtenidas del estudio son aplicables a los efectos de la presente evaluación referida a una liberación comercial en la República Argentina.

Por lo expuesto, se concluye que los eventos MST-FGØ72-2 y MST-FGØ72-2 x ACS-GM006 no presentan un comportamiento agrofenotípico inesperado que pueda ser indicativo de efectos no intencionales producto de la transformación genética, ni producto de la posible interacción de las nuevas proteínas expresadas que puedan resultar en un impacto adverso sobre el agroecosistema.

5.2.Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación.

Evento MST-FGØ72-2

Se llevó a cabo un estudio de poder germinativo y dormición sobre las semillas del evento MST-FGØ72-2 utilizando el protocolo de la Asociación de Analistas Oficiales de Semillas (AOSA), el cual recomienda una temperatura constante a 25°C. Se observó una diferencia entre los porcentajes de germinación de la soja MST-FGØ72-2 y la variedad convencional (95,1% y 96,5% respectivamente, a los 13 días de inicio del ensayo). Sin embargo, ambos porcentajes de germinación fueron altos y la diferencia encontrada no fue de magnitud considerable. A su vez, no se encontraron semillas dormidas para la soja MST-FGØ72-2 como así tampoco para su contraparte convencional. La disminución en el porcentaje de germinación observada en el evento MST-FGØ72-2 se debe a un aumento en el porcentaje de semillas muertas y germinadas anormalmente.

Evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4

Se llevó a cabo un estudio de poder germinativo y dormición sobre las semillas del evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 utilizando el protocolo de la Asociación de



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

Analistas Oficiales de Semillas (AOSA), el cual recomienda una temperatura constante a 25°C. Se ensayó 1 régimen de temperatura adicional: 10°C/25°C. No se observaron diferencias significativas para ninguna de las condiciones evaluadas.

Estos resultados indican que, en comparación con la soja convencional, los eventos MST-FGØ72-2 y MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 no poseen mayor capacidad de sobrevivir sin asistencia humana.

Se concluye que los genes cuya expresión otorgan el fenotipo de tolerancia a los herbicidas glifosato, glufosinato e isoxaflutole, sólo confieren una ventaja selectiva a la soja GM cuando se la expone a los herbicidas mencionados, sin ser ello suficiente para que la planta adquiera características de maleza.

5.3. Potencial para la transferencia horizontal o intercambio de genes del OVGM con otros organismos

La biología reproductiva de los eventos MST-FGØ72-2 y MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 no es diferente a la de la soja no GM; además no existen en el país especies cultivables ni silvestres sexualmente compatibles con este cultivo.

Por otro lado, a partir de la literatura científica disponible hasta el momento se sabe que no existen casos de transferencia horizontal desde soja hacia microorganismos, vectores virales o insectos y no existen razones para suponer que esta característica haya cambiado en los eventos MST-FGØ72-2 y MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4.

Asimismo, las características de los eventos MST-FGØ72-2 y MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4, al igual que cualquier otra soja no GM, determinan que es improbable que pueda transferirse material genético desde los alimentos hacia los consumidores, o los microorganismos presentes en su tracto digestivo, como consecuencia de su ingesta. La acción degradadora de las enzimas digestivas sobre los ácidos nucleicos ingeridos con los alimentos y fundamentalmente la ausencia de elementos de conjugación, transposición u otras formas de movilización que favorezcan la transferencia de genes desde el organismo en cuestión hacia otros organismos, hace que esto sea aún más improbable.

5.4. Patogenicidad para otros organismos



*Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor*

La soja es reconocida como una planta no patógena para otros organismos, esta característica no se encuentra alterada en la soja GM comprendida en este documento.

Por otro lado, si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en la soja no GM y la soja MST-FGØ72-2 y MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4 provienen de fitopatógenos, no se encuentran presentes en dichos eventos secuencias que confieran las correspondientes características patogénicas de los organismos de los que provienen, careciendo por lo tanto estos eventos de riesgos de patogenicidad.

6. Análisis de interacción de los productos de expresión

Mediante el análisis de los mecanismos de acción, estudios de composición centesimal y de comportamiento agrofototípico, se evaluó la posibilidad de interacción entre los nuevos productos de expresión (HPPD W336, 2mEPSPS y PAT) en el evento acumulado.

Se sabe que las proteínas que confieren tolerancia a los herbicidas glufosinato, glifosato e isoxaflutole son enzimas que actúan en rutas metabólicas diferentes (sección I 3.2.).

A su vez, los resultados obtenidos en los estudios de composición centesimal (sección II 4) y de comportamiento agrofototípico (sección II 5.1.) mostraron la ausencia de efectos no esperados que puedan resultar en un impacto adverso sobre el agroecosistema producto de la posible interacción entre las nuevas proteínas expresadas.

Estos datos tomados en conjunto constituyen evidencia consistente para inferir que no existe interacción entre las tres proteínas expresadas en el evento MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4.

7. Recomendación

En función de las características de las sojas MST-FGØ72-2 y MST-FGØ72-2 x ACS-GM006-4, y subsecuente a la eventual obtención de la autorización para su comercialización y con el fin de retrasar la selección de biotipos de malezas resistentes a



Ministerio de Agroindustria
Secretaría de Agregado de Valor

glifosato, glufosinato de amonio o isoxaflutole o cualquier combinación de los herbicidas nombrados, se recomiendan las siguientes prácticas:

- Rotar cultivos y herbicidas con diferentes mecanismos de acción.
- Identificar las malezas presentes y definir el/los herbicida/s más adecuados para su manejo.
- Seguir las instrucciones del marbete (dosis, momento de aplicación, precauciones respecto al uso, almacenamiento y preparación del producto)
- Realizar monitoreos para verificar la eficacia de control en las malezas. Evitar su reproducción por semilla o proliferación vegetativa.

Dentro de este marco, se aconseja al solicitante comunicar y difundir esta información a través de los canales de distribución, venta, jornadas, entre otros, así como también generar espacios de capacitación a productores y asesores para implementar dichas recomendaciones.

Ante una sospecha de aparición de malezas resistentes, se sugiere que el productor lo informe al solicitante y que este lo asista proponiendo acciones de manejo y/o mitigación.