

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Caña de azúcar genéticamente modificada TUC-873RH-7 (OCDE) que confiere tolerancia al herbicida a base de glifosato, presentada por la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC).

Sobre la base del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico disponible, los suscritos, miembros de la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) y de la Dirección de Biotecnología acuerdan dar por finalizada la Segunda Fase de Evaluación de la caña de azúcar genéticamente modificada (GM) TUC-873RH-7, concluyendo que los riesgos derivados de la liberación de este organismo vegetal genéticamente modificado (OVGM) al agroecosistema, en cultivo a gran escala, no difieren significativamente de los inherentes al cultivo de la caña de azúcar no GM.

La caña de azúcar TUC-873RH-7 ha sido ensayada a campo en Argentina desde 2007 hasta 2014 y para tal fin fueron solicitados y evaluados por la CONABIA cuatro permisos plurianuales para experimentación y/o liberación confinada al medio agropecuario que cumplieron con la normativa vigente para los OVGM, y fueron oportunamente autorizados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP).

El presente Documento de Decisión se aplica a la caña de azúcar TUC-873RH-7.

I. ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

1. Nombres común y científico: Caña de azúcar, *Saccharum spp.* (cultivar RA 87-3).

2. Denominación del evento: TUC-873RH-7

3. Modificaciones introducidas

El presente evento confiere a la caña de azúcar tolerancia al herbicida glifosato, mediante la expresión del gen introducido *cp4-epsps*.

3.1. Características del herbicida

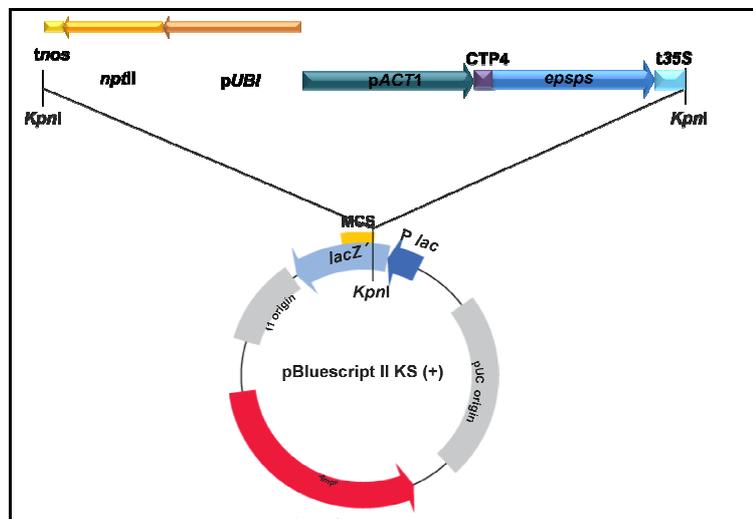
El glifosato es un herbicida de amplio espectro, no residual, que controla malezas anuales y perennes y puede aplicarse tanto en pre como en post emergencia del cultivo.

3.2. Método de transformación

El evento TUC-873RH-7 ha sido obtenido por biobalística.

3.3. Secuencias introducidas

El evento TUC-873RH-7 ha sido transformado con el vector completo que se ilustra a continuación:



Descripción de los elementos:

Elemento Genético	Organismo donante	Descripción (función en el organismo receptor)
INSERTO		
pACT1 + 5´	<i>Oryza sativa</i>	Región promotora de la transcripción
cTP4	<i>Petunia hybrida</i>	Péptido de tránsito a cloroplasto.
cp4-epsps	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> cepa CP4	Codifica para la proteína CP4 EPSPS. Confiere tolerancia a Glifosato.
t35S	Virus del mosaico de la coliflor	Terminador de la transcripción.
pUBI	<i>Zea mays</i>	Región promotora de la transcripción.
nptII	<i>Escherichia coli</i> K12	Gen de selección. Codifica para la proteína NPTII, la cual otorga resistencia a kanamicina, neomicina, geneticina (G418) y paromomicina.
Tnos	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Terminador de la transcripción.
pBluescript II KS(+)		
ampR	<i>Salmonella paratyphi</i>	Gen de selección utilizado durante el proceso de clonado. Codifica para la enzima β -lactamasa, la cual otorga resistencia al antibiótico ampicilina.
pUC origin	<i>Escherichia coli</i>	Origen de replicación.
f1 origin	Fago auxiliar f1	Origen de replicación.
lacZ	<i>Escherichia coli</i>	El gen <i>lacZ</i> se encuentra interrumpido por el inserto dentro del sitio múltiple de clonado (MCS). Se utiliza como gen de selección durante el proceso de clonado previo a la transformación de la planta.

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

Se evidenció la presencia de al menos nueve sitios de integración combinando resultados de *Southern blot* con datos obtenidos a partir de la secuenciación masiva de las bibliotecas enriquecidas con fragmentos genómicos de interés. Además, mediante secuenciación se pudo corroborar la integridad de al menos dos insertos, así como también la ausencia de modificaciones genéticas sobre la totalidad de las secuencias insertadas. Se observó un único cambio puntual en la secuencia no codificante del promotor de Actina en todas las secuencias obtenidas, por lo que se presume que dicho cambio ya estaba presente en el vector de transformación. En cualquier caso, esto no genera ninguna hipótesis de riesgo respecto de la bioseguridad del evento.

3.5. Regiones flanqueantes

La evaluación a través de las herramientas bioinformáticas (BlastX) indicó también que, de acuerdo a la información de secuencias disponibles, no existe una interrupción de genes endógenos ni de elementos regulatorios presentes en los sitios de integración. Los estudios bioinformáticos muestran que es altamente improbable que los nuevos marcos abiertos de lectura (*ORF - Open Reading Frame*) conduzcan a la expresión de nuevas proteínas viables. Adicionalmente se identificaron tres retrotransposones y dos proteínas putativas cuyas secuencias pueden ser interrumpidas pero no se predijo la interrupción o creación de nuevos genes.

4. Detección del evento

La presencia del evento TUC-873RH-7 puede ser determinada experimentalmente mediante PCR evento específica utilizando muestras de tallo u hoja.

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación.

Bajo las condiciones agroclimáticas actuales de la zona de producción de caña de azúcar en nuestro país y en ausencia de asistencia humana, es muy poco probable que la

caña de azúcar pueda reproducirse sexualmente, diseminarse y establecerse. En particular, la cv. RA 87-3 que ha sido transformada en este caso demuestra que no tiene capacidad de producir semilla viable en el país en condiciones naturales.

Por otro lado, la presencia del *gen cp4-epsps* sólo confiere una ventaja selectiva a la caña de azúcar TUC-873RH-7 cuando se la expone al herbicida glifosato, siendo esta característica insuficiente para que la planta adquiera rasgos de maleza.

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

2.1. La probabilidad de que en la caña de azúcar cv. RA 87-3 el período de inducción floral, producto del fotoperiodo, sea acompañado por los requerimientos térmicos adecuados, es muy baja. Aún así, de ocurrir la floración, las temperaturas necesarias para que el polen sea viable no se cumplen de manera continua en el Norte de Argentina bajo las condiciones climáticas actuales. Por lo expuesto anteriormente, la ocurrencia de flujo génico desde y hacia el evento TUC-873RH-7 en nuestro país, se encuentra muy limitado.

2.2. De la literatura científica disponible hasta el momento no surge la existencia de fenómenos de transferencia horizontal de genes desde la caña de azúcar hacia microorganismos, vectores virales o insectos, y se considera que no existen razones para suponer que esta característica haya cambiado en la caña de azúcar TUC-873RH-7.

2.3. Los estudios realizados hasta el momento demuestran que es muy poco probable que pueda transferirse material genético desde los alimentos hacia el ser humano, animales o los microorganismos presentes en el tracto digestivo, como consecuencia de su consumo. La acción degradadora de las enzimas digestivas sobre los ácidos nucleicos ingeridos con los alimentos y la ausencia de elementos funcionales que favorezcan la movilización de genes desde el organismo en cuestión hacia otras especies, hace que esto sea aún más improbable.

3. Productos de expresión de los genes introducidos

La expresión de CP4 EPSPS y NPTII en hoja, tallo y raíz fue cuantificada mediante ensayos de *western blot*. Ambas proteínas fueron ensayadas para el evento transgénico TUC-873RH-7, con y sin aplicación de glifosato, y la línea parental no transgénica RA87-3, en dos localidades del noroeste argentino.

Las proteínas NPTII y CP4 EPSPS fueron detectadas y cuantificadas en muestras de tejido de hoja (valores promedio $0,29 \pm 0,04$ y $0,12 \pm 0,02$ $\mu\text{g/g}$ peso fresco, respectivamente) pero no pudieron ser detectadas en tallo y raíz (límite de detección <10 ng de proteína recombinante purificada).

4. Estabilidad fenotípica y genotípica

Dado que la caña de azúcar se multiplica a través de la reproducción asexual por medio de esquejes, la estabilidad fenotípica de tolerancia a glifosato en la caña de azúcar TUC-873RH-7 se evaluó mediante su propagación y ha sido demostrada por cuatro ciclos de multiplicación clonal a campo.

La estabilidad del genotipo en estas condiciones de cultivo ha sido comprobada mediante ensayos de *Southern blot* para dos generaciones (G1 y G3) en tres campañas consecutivas. Asimismo, se presentaron ensayos de RT-PCR cuantitativa para estas etapas, las cuales mostraron resultados estables a lo largo del tiempo.

5. Patogenicidad para otros organismos

5.1. La caña de azúcar es reconocida como una planta no patógena para otros organismos, esta característica no se encuentra alterada en el cultivo GM analizado en este documento.

5.2. Si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en la caña TUC-873RH-7 provienen de fitopatógenos, no se encuentran presentes en el evento secuencias que confieran las características patogénicas de los organismos donantes, careciendo por lo tanto este evento de riesgos de patogenicidad.

6. Potencial para producir impactos en el agroecosistema

La evaluación agronómica comparativa entre la caña de azúcar portadora del evento TUC-873RH-7 y la caña de azúcar no GM cultivar RA 87-3, se llevó a cabo en las campañas 2012 y 2013 en Argentina para los siguientes parámetros: altura, peso individual y diámetro del tallo, rendimiento de caña, porcentaje de brotes emergidos y susceptibilidad a enfermedades y estreses abióticos, así como los marcadores morfológicos propuestos por la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV): Adherencia de la vaina a la hoja, diámetro, forma y color de la parte expuesta y no expuesta al sol del entrenudo, expresión de la alineación en zig zag del entrenudo, forma de la yema excluyendo las alas, color del collar de la vaina de la hoja y anchura en el punto medio de la longitud del limbo de la hoja. Además, se evaluó el comportamiento frente a insectos fitófagos e insectos benéficos de mayor relevancia en el agroecosistema donde se desarrolla el cultivo. Dichos estudios mostraron que, salvo por la característica de resistencia a glifosato, la caña de azúcar TUC-873RH-7 tiene un comportamiento agronómico equivalente a la caña no GM, excepto por leves diferencias en la adherencia de la vaina a la hoja y el color de la parte expuesta al sol del entrenudo. Estas diferencias no implican un riesgo asociado a la liberación del cultivo en el agroecosistema.

7. Potencial tóxico o alergénico

Los análisis bioinformáticos realizados sobre las secuencias de las proteínas CP4 EPSPS y NPTII expresadas en el evento TUC-873RH-7, indicaron que ambas proteínas son equivalentes a las proteínas presentes en numerosos eventos que cuentan con aprobación comercial, por lo que no se espera que las mismas constituyan un riesgo para la bioseguridad.

8. Composición centesimal del OVG

Los estudios composicionales de la caña de azúcar TUC-873RH-7 comparados con su contraparte convencional se llevaron a cabo en ensayos a campo en las campañas 2012 y 2013 en dos localidades de Argentina. Los análisis composicionales de caña entera (hoja y tallo) incluyeron: humedad, proteínas, fibra en detergente ácido, fibra en detergente neutro,

cenizas y grasas. Para el cogollo se midió la humedad, proteínas, fibra cruda, cenizas y grasas. También se midió la sacarosa en el jugo del tallo y la dhurrina en la hoja.

El estudio composicional presentado para el evento evidencia que, si bien se encontraron algunas diferencias significativas (fibra en detergente ácido y la grasa de la caña entera), todos los valores obtenidos estuvieron dentro del rango de la literatura científica o bien, acompañaron la tendencia de los resultados de las campañas ensayadas; por lo tanto, las diferencias observadas no fueron consideradas biológicamente relevantes.

9. Recomendaciones

En función de las características de la caña de azúcar TUC-873RH-7, y subsecuente a la eventual obtención de la autorización para su comercialización, se recomienda que se implemente el programa propuesto por el solicitante con el fin de retrasar la aparición de malezas resistentes al herbicida glifosato. Este programa incluye recomendaciones de acciones preventivas tales como: uso apropiado de las dosis, modos y momentos de aplicación que se indican en el marbete de las formulaciones, la implementación de una combinación de prácticas agronómicas, incluyendo el uso racional de herbicidas con diferentes modos de acción y la rotación de cultivos, así como también monitorear la aparición de malezas resistentes al herbicida glifosato. Utilizar herbicidas selectivos para caña de azúcar de distinto modo de acción y/o rotar con cultivos que permitan utilizar herbicidas con otros modos de acción.

Dentro de este marco, el solicitante se compromete a realizar monitoreos permanentes que acompañarán la gradual expansión del cultivo de dicho evento. Esto se llevará a cabo mediante periódicas visitas a campos de productores.

Adicionalmente, para retrasar la aparición de malezas resistentes, la Comisión recomienda el desarrollo de nuevas variedades de caña tolerantes a herbicidas con distintos mecanismos de acción al herbicida glifosato.