



"2012 - Año de Homenaje al doctor D. MANUEL BELGRANO"

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Algodonero genéticamente modificado BCS-GHØØ2-5xACS-GHØØ1-3 (OCDE), aquí denominado GHB614xLLCotton25, que contiene la acumulación de los eventos GHB614 y LLCotton25. Los mismos confieren tolerancia a los herbicidas glifosato (GHB614) y glufosinato de amonio (LLCotton25), presentado por la empresa Bayer Cropsience S.A.

Sobre la base del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico disponible, los suscriptos, representantes ante la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) acuerdan en dar por concluida la Segunda Fase de Evaluación del algodón genéticamente modificado (GM) GHB614xLLCotton25, la que es extensiva a los eventos individuales GHB614 y LLCotton25. De esta evaluación se concluye que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación de los mencionados algodones GM en el agroecosistema, en cultivo a gran escala, no son significativamente diferentes de los inherentes al cultivo de algodón no GM.

El algodón GM GHB614xLLCotton25 fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales (GHB614 y LLCotton25) conteniendo cada uno de los eventos de transformación en forma separada.

El algodón GM GHB614xLLCotton25 se ensaya a campo, en nuestro país, desde 2007, mientras que los algodones GM GHB614 y LLCotton25 se ensayan a campo en Argentina desde 2006 y 2002 respectivamente. Para tal fin fueron solicitados ante la SAGPyA y evaluados por la CONABIA TRES (3), SEIS (6) y UN (1) permisos para experimentación y/o liberación al medio agropecuario que han cumplido con la normativa vigente para los organismos vegetales genéticamente modificados (OVGM), los que contaron con las correspondientes autorizaciones.

El presente Documento de Decisión incluye al algodón GM GHB614xLLCotton25, a los eventos individuales GHB614 y LLCotton25, y a toda la



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

progenie derivada de los cruzamientos de estos materiales con cualquier algodón no GM obtenido en forma convencional.

I. ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO.

1. Nombres común y científico: Algodonero, *Gossypium hirsutum* L.

2. Denominación de los eventos: GHB614, LLCotton25 y GHB614xLLCotton25.

3. Modificaciones introducidas: Tolerancia a los herbicidas glifosato, conferida por el gen *2mepsps*, aportado por el evento GHB614 y glufosinato de amonio conferida por el gen *bar* aportado por el evento LLCotton25.

3.1. Secuencias introducidas en el evento GHB614:

El evento GHB614 fue obtenido por transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

3.1.1. Gen principal: *2mepsps*.

El gen *2mepsps*, proviene del maíz (*Zea mays*) y posee 2 mutaciones puntuales respecto del gen *epsps* nativo. Codifica para la enzima 2mEPSPS la cual, cataliza la transformación de fosfo-enolpiruvato (PEP) a shikimato-3-fosfato (S3P), confiriéndole así tolerancia al herbicida glifosato.

3.1.2 Otros elementos

Este gen se encuentra controlado por la secuencia promotora *Ph4a748At* de la histona H4, combinada con el primer intrón del gen II de la histona H3.III (*h3At*), ambas provenientes de *Arabidopsis thaliana*, En el extremo 5' del gen *2mepsps* se encuentra la secuencia *TPotp C* la cual ha sido diseñada a partir de las secuencias presentes en la subunidad pequeña de RuBisCO de maíz (*Z. mays*) y de girasol (*Helianthus annuus*) y optimizada para este evento. La misma codifica



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

para un péptido de tránsito cuya función es dirigir la proteína madura hacia los plástidos. En el extremo 3' del gen *2mepsps* el elemento *3'histonAt* correspondiente a la región 3' no traducida del gen de la histona H4 de *A. thaliana* es utilizado en la construcción como señal de terminación de la transcripción y dirige la poliadenilación del ARN mensajero.

3.1.3. Bordes

El inserto GHB614 posee los bordes izquierdo y derecho de la región T del plásmido Ti de *A. tumefaciens* en los extremos correspondientes del inserto.

3.2. Secuencias introducidas en el evento LLCotton25:

El evento LLCotton25 fue obtenido por transformación mediada por *A. tumefaciens*.

3.2.1. Gen principal: *bar*.

El gen *bar* aislado de *Streptomyces hygrosopicus*, cepa ATCC21705, codifica para la proteína fosfotricina-acetil transferasa (Pat) y confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio.

3.2.2. Otros elementos:

La secuencia promotora P35S3 proveniente del transcripto 35S del CaMV (Virus del Mosaico del Coliflor) regula de manera constitutiva la expresión del gen *bar*. El elemento *3'nos*, derivado del gen de la nopalina sintasa del plásmido pTiT37 de *A. tumefaciens*, es utilizado como señal de terminación de la transcripción y dirige la poliadenilación del ARN mensajero.

3.2.3. Bordes

El inserto LLCotton25 posee los bordes izquierdo y derecho de la región T del plásmido Ti de *A. tumefaciens* en cada uno de los extremos.



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

3.3. Integridad de los insertos y número de copias en los eventos GHB614, LLCotton25 y GHB614xLLCotton25:

En cada uno de los eventos individuales, los genes y sus secuencias regulatorias se encuentran formando parte de un solo inserto, el cuál se comporta como un único locus cromosómico. Los insertos en cada evento individual se encuentran en una sola copia y su integridad ha sido verificada experimentalmente a través de sucesivas generaciones mediante análisis de *Southern blot*. No se observaron modificaciones de dichas características en el evento acumulado GHB614xLLCotton25 respecto de los eventos individuales.

3.4. Detección de los eventos GHB614, LLCotton25 y GHB614xLLCotton25:

La presencia de estos eventos puede ser determinada experimentalmente mediante técnicas moleculares de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). 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. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación.

Comparado con el algodón convencional, los algodones GM GHB614, LLCotton25 y GHB614xLLCotton25 no poseen mayor capacidad que sus homólogos convencionales de sobrevivir sin asistencia humana y/o adquirir características de maleza.

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



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

La experiencia y la literatura demuestran que el género *Gossypium* presenta una compatibilidad sexual limitada para cruzarse con otros géneros de malváceas, por lo tanto, la probabilidad de que ocurran estos cruzamientos es extremadamente baja.

En cuanto a la especie, *G. hirsutum* sólo puede cruzarse con *G. barbadense* únicamente en presencia de insectos polinizadores debido a que el polen de algodón por su gran tamaño, peso y naturaleza pegajosa, no puede ser transferido por el viento. En los algodones GM GHB614, LLCotton25 y GHB614xLLCotton25, la producción de polen y su viabilidad no son diferentes a las del algodón no GM.

Por otro lado, de la literatura científica disponible hasta el momento no surge la existencia de fenómenos de transferencia horizontal de genes desde el algodón hacia microorganismos, vectores virales o insectos. Por lo tanto se considera que no existen razones para suponer que esta característica haya cambiado en los algodones GM.

3. Productos de la expresión de los genes introducidos.

En la siguiente tabla se describe las concentraciones medias y los rangos de las concentraciones medidas para cada proteína en el evento acumulado comparado con los eventos individuales. En las comparaciones se identificó una pequeña diferencia en hoja, sin embargo, no se prevén efectos no deseados respecto a la bioseguridad del evento acumulado.



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

Tabla: Niveles promedio de expresión de las proteínas PAT/bar y 2mEPSPS en distintos tejidos del evento acumulado GHB614xLLCotton25 en comparación con los eventos parentales GHB614 y LLCotton25. (µg/g peso fresco)

Tejido	Proteína		Promedio del contenido de Proteína (µg/g peso fresco)		
			GHB614	LLCotton25	GHB614xLLCotton25
Hoja	PAT/bar	Promedio ^a ± SD ^b	-	3.71 ± 2.38	7.45 ± 2.99
		Rango ^c	-	1.69 – 7.29	5.30 – 11.2
	2mEPSPS	Promedio ^a ± SD ^b	17.1 ± 2.0	-	26.9 ± 3.3
		Rango ^c	14.5 – 19.6	-	22.5 – 30.5
Pimpollo	PAT/bar	Promedio ^a ± SD ^b	-	32.5 ± 6.8	30.3 ± 11.6
		Rango ^c	-	23.8 – 40.2	15.7 – 40.5
	2mEPSPS	Promedio ^a ± SD ^b	19.1 ± 7.2	-	18.1 ± 4.0
		Rango ^c	12.7 – 31.0	-	14.8 – 24.0
Semilla ^d	PAT/bar	Promedio ^a ± SD ^b		246 ± 94	276 ± 89
		Rango ^c		144 – 445	123 - 406
	2mEPSPS	Promedio ^a ± SD ^b	8.54 ± 5.74		17.6 ± 4.0
		Rango ^c	2.63 – 21.6		11.8 – 24.2

^a µg/g peso fresco ± SD^b.

^b El desvío estándar se determinó utilizando 20 muestras.

^c Los rangos se determinaron como los valores mínimos y máximos de las muestras evaluadas.

^d Semilla sin cobertura (Kernel)

Fuente: Bayer Cropscience S.A.



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca*

4. Estabilidad fenotípica y genética.

En los algodoneos GM GHB614, LLCotton25 y GHB614xLLCotton25 cada uno de los *loci* se transfiere a la progenie segregando independientemente unos de otros, siguiendo en cada caso un patrón mendeliano simple. La integridad de los insertos ha sido verificada experimentalmente a través de sucesivas generaciones.

5. Patogenicidad para otros organismos.

Si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en los algodoneos GM comprendidos en este documento provienen de fitopatógenos (el promotor 35S proveniente del CaMV, el terminador *nos* proveniente del plásmido pTiT37 y los bordes del plásmido Ti de *A. tumefaciens*), no se prevén riesgos de patogenicidad dados por dichos elementos.

6. Potencial para producir impactos en el agroecosistema.

Estudios a campo de evaluación agronómica de los algodoneos objetos de la presente solicitud en forma comparativa con el algodoneo isogénico convencional, muestran que su comportamiento agronómico no se ha modificado más allá de las características intencionalmente introducidas.

7. Potencial tóxico o alergénico.

Las secuencias de aminoácidos de las proteínas nuevas expresadas en los algodoneos comprendidos en este documento comparadas con las secuencias de proteínas tóxicas o alergénicas conocidas, no muestran niveles de identidad que permitan indicar posibles efectos tóxicos o alergénicos.



"2012 - Año de Homenaje al doctor D. MANUEL BELGRANO"

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

Los estudios de estabilidad de las proteínas nuevas expresadas muestran que son rápidamente degradadas en el fluido gástrico simulado (FGS) indicando así, que no presentan características que hagan suponer efectos alérgicos.

Los estudios de toxicidad aguda en ratones muestran ausencia de efectos tóxicos de estas proteínas en mamíferos.

8. Composición centesimal del OVG.

Las composiciones centesimales, evaluadas en semilla de los algodones GM comprendidos en este documento, mostraron ser equivalentes al algodón no GM.

9. Recomendación.

En función de las características del evento acumulado GM GHB614xLLCotton25 y de los eventos parentales GM GHB614 y LLCotton25, y ante la eventual obtención de la autorización para su comercialización, se recomienda que se implemente un plan de prevención y manejo de la generación de resistencia en las malezas.