

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Algodonero genéticamente modificado MON531xMON1445 que contiene la acumulación de eventos MON531 y MON1445, los cuales confieren resistencia a insectos Lepidópteros y tolerancia al herbicida glifosato, respectivamente de la empresa Monsanto Argentina S.A.I.C.

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), habiendo completado la Segunda Fase de Evaluación, consideran que los riesgos de bioseguridad para los agroecosistemas en que se desarrolla el cultivo del algodón, derivados del cultivo en gran escala de algodón genéticamente modificado (GM) MON531xMON1445, no son significativamente diferentes de los inherentes al cultivo del algodón no genéticamente modificado.

Este algodón GM contiene la acumulación de los eventos de transformación individualmente denominados MON531 y MON1445 y fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales conteniendo cada uno de ellos los eventos de transformación MON531 y MON1445 en forma separada. El algodón motivo de esta solicitud ha sido ensayado a campo en Argentina y para tal fin fueron solicitados ante la SAGPyA y evaluados por la CONABIA nueve (9) permisos para experimentación y/o liberación al medio agropecuario, que han cumplido con la normativa vigente para los organismos genéticamente modificados (OGM), los que contaron con las correspondientes autorizaciones. Las liberaciones realizadas corresponden a los expedientes N° 739/97; 743/97; 853/99; 438/00; 10021/01; 276932/02; 262218/02; 178646/04 y 347579/06.

El presente Documento de Decisión incluye al algodón GM MON531xMON1445 conteniendo solamente la acumulación de eventos MON531 y MON1445, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier algodón obtenido en forma convencional no GM.

I. ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

1. Nombres común y científico: Algodonero, *Gossypium hirsutum*.
2. Denominación del evento: Acumulación de los eventos MON531 y MON1445.
3. Modificaciones introducidas:
Resistencia a insectos Lepidópteros y tolerancia al herbicida glifosato.

Para MON531

3.1. Genes expresados en la planta:

3.1.1. Dos genes se expresan en la planta: i) el gen *cry1Ac* proveniente de la bacteria *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki*, el cual codifica para la proteína Cry1Ac que confiere resistencia a insectos Lepidópteros y ii) el gen *nptII* derivado del transposón *Tn5* de *Escherichia coli* que codifica para la proteína NPTII que confiere resistencia al antibiótico kanamicina.

3.1.2. El evento MON531 contiene 2 insertos de T-DNA (el segmento transferido del vector de transformación *Agrobacterium tumefaciens*) conteniendo en uno de ellos, el cassette funcional completo con los genes *cry1Ac* y *nptII*, mientras que el segundo inserto consiste en la porción 3' de la región codificante del gen *cry1Ac* y el terminador 7S3' de la construcción utilizada en la transformación y se encuentra adyacente al anterior y en orientación opuesta. Juntos, estos dos insertos arreglados como una repetición invertida, se comportan como un único locus constituido por dos cassettes que contienen los genes indicados arriba y confieren al algodónero MON531 el fenotipo de resistencia a Lepidópteros.

3.2. Otros elementos:

3.2.1. La expresión de estos genes es constitutiva. En el caso del gen *cry1Ac* está controlada por el promotor e35S (promotor del transcripto 35S, conteniendo la región potenciadora duplicada) y en el caso del gen *nptII* está controlada por el promotor del transcripto 35S, ambos promotores provenientes del virus del mosaico de la coliflor (CaMV).

3.2.2. Región *nos3'*: Se encuentra presente en el inserto una copia asociada al gen de resistencia a kanamicina. Esta secuencia actúa como señal de terminación de transcripción y de poliadenilación del transcripto. En *A. tumefaciens* esta secuencia determina el fin de la transcripción y la poliadenilación del transcripto del gen *nos*, el cual codifica para la enzima nopalina sintasa.

3.2.3. Región 7S 3': También se encuentra presente una copia asociada al gen de resistencia a insectos Lepidópteros. Esta secuencia actúa en este evento como señal de terminación de transcripción y de poliadenilación del transcripto. En *Glycine max* esta secuencia determina el fin de la transcripción y la poliadenilación del transcripto del gen 7s, el cual codifica para la proteína de reserva de semilla de soja denominada globulina 7s.

3.3. Integridad del inserto:

La integridad del inserto ha sido verificada experimentalmente.

Para MON1445

3.1. Genes expresados en la planta:

3.1.1. Dos genes se expresan en la planta: i) el gen *cp4-epsps*, proveniente de la bacteria *A. tumefaciens* cepa CP4, el cual codifica para la proteína CP4 EPSPS (la enzima 5-enolpiruvil-siquimato 3-fosfato sintetasa) que confiere tolerancia al herbicida glifosato, y ii) el gen *nptII* derivado del transposón *Tn5* de *Escherichia coli* que codifica para la proteína NPTII.

3.1.2. El fragmento integrado al genoma de la planta, conteniendo los genes arriba mencionados, se encuentra formando parte de un solo inserto que se comporta como un único locus.

3.2. Otros elementos:

3.2.1. La expresión de estos genes es constitutiva. En el caso del gen *cp4-epsps* está controlada por el promotor del transcripto 35S del virus del mosaico del figwort, (FMV, un *Caulimovirus*). La expresión del gen *nptII* está controlada por el promotor del transcripto 35S proveniente del CaMV.

3.2.2. *ctp2*: proveniente de *Arabidopsis thaliana*, que corresponde a la secuencia de ADN que expresa el péptido de tránsito al cloroplasto.

3.2.3. Región *nos3'*: Se encuentra presente en el inserto una copia asociada al gen *nptII*. Esta secuencia actúa como señal de terminación de transcripción y de poliadenilación del transcripto. En *A. tumefaciens* esta secuencia determina el fin de la transcripción y la poliadenilación del transcripto del gen *nos*, el cual codifica para la enzima nopalina sintasa.

3.2.4. Región *E9 3'*: Se encuentra presente una copia asociada al gen *cp4-epsps*. Esta secuencia actúa como señal de terminación de transcripción y de poliadenilación del transcripto. En *Pisum sativum* esta secuencia determina el fin de la transcripción y la poliadenilación del transcripto del gen *rbc-E9*, el cual codifica para una sub unidad de la enzima rubisco sintasa.

3.3. Integridad del inserto:

La integridad del inserto ha sido verificada experimentalmente.

II. EVALUACION DE RIESGO

1. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación.

El algodónero no presenta comportamiento de maleza pues es un débil competidor por recursos y tiene poca capacidad para invadir ecosistemas establecidos. El algodónero no sobrevive los inviernos en los que se presentan heladas y al ser perenne, no depende de la producción de semillas cada año para perpetuarse.

La probabilidad de que las características de los eventos del algodónero GM MON531xMON1445 confieran propiedades de maleza es baja. En caso de establecerse una población, ésta sería tolerante al herbicida glifosato sólo en estados de desarrollo temprano, siendo susceptible a una amplia gama de otros herbicidas. La característica conferida de resistencia a insectos es la misma que la de su parental, no siendo suficiente para que adquiera características de maleza.

Adicionalmente, no se ha observado en los 8 años que este evento se ha ensayado en Argentina y en otros países, diferencia alguna en la supervivencia ó competitividad del algodónero GM MON531xMON1445 en comparación con sus líneas parentales transgénicas individuales ó con variedades convencionales.

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

2.1. Para que la transferencia de genes del algodónero hacia otras especies ocurra por la vía normal de la transmisión sexual deben existir varias condiciones: los dos tipos parentales deben ser sexualmente compatibles, sus complementos cromosómicos deben ser compatibles, sus períodos de fertilidad deben coincidir, un vector conveniente de polen debe estar presente y ser capaz de transferir el polen entre los dos tipos parentales y como resultado la descendencia debe ser fértil y ecológicamente apta para las condiciones ambientales en las cuales ellos se encuentran. La experiencia y la literatura indican que la capacidad de *Gossypium* para cruzarse con otros géneros de malváceas no cumple con estas condiciones y, por lo tanto, la probabilidad de que ocurran estos cruzamientos es extremadamente baja.

G. hirsutum solo puede cruzarse con *G. barbadense*, si existen insectos polinizadores (abejorros *Bombus* spp., abejas *Mellisoides* y productoras de miel *Aphis mellifera* principalmente) durante el momento en que las plantas están receptivas y cuando la distancia entre ellas es escasa.

2.2. No hay evidencias de la existencia de otro mecanismo que la vía sexual, por el cual se puedan movilizar genes de una planta de algodónero a otros organismos.

Se ha estudiado la frecuencia de la posible transferencia horizontal de plantas a otros organismos (por ejemplo patógenos bacterianos asociados). Estos estudios comprendieron diferentes ambientes, como: suelo, agua, desechos cloacales, y el tracto digestivo de mamíferos. Estos estudios concluyeron que el riesgo de una posible transferencia es irrelevante en cuanto a su contribución a la estimación del riesgo ambiental de la liberación de plantas transgénicas. Por lo tanto, se considera que no existen razones para suponer que el mecanismo de transferencia horizontal haya cambiado en el algodónero GM MON531xMON1445.

2.3. La presencia de los genes contenidos en este algodónero puede ser determinada mediante técnicas moleculares de dominio corriente (PCR y ELISA), las que podrán utilizarse si fuera necesario evaluar la ocurrencia de transferencia horizontal. En el caso de la proteína CP4EPSPS, se puede utilizar la tolerancia a glifosato como prueba biológica para evidenciar la presencia de este gen.

3. Productos de la expresión de los genes introducidos.

3.1. Niveles de expresión de las proteínas codificadas por los genes introducidos:

Niveles promedio de las proteínas Cry1Ac, CP4 EPSPS y NPT II en líneas transgénicas.

Línea	Cry1Ac	CP4 EPSPS	NPTII
A. Hojas			
DP5415	N/D	N/D	N/D
DP5415BG	5.00 ± 1.84	N/D	4.94 ± 1.70
DP5415RR	N/D	53.2 ± 5.79	30.3 ± 7.98
DP5415BGRR	4.84 ± 1.73	79.7 ± 28.5	35.1 ± 10.3
B. Semillas			
DP5415	N/D	N/D	N/D
DP5415BG	4.30 ± 0.86	N/D	5.48 ± 0.83
DP5415RR	N/D	138 ± 61.3	14.8 ± 2.57
DP5415BGRR	3.81 ± 0.71	146 ± 52.9	22.0 ± 4.39

Los valores se expresan en μg / gramo de peso de tejido fresco (ppm).

N/D: el límite de detección para las estimaciones de Cry1Ac, CP4EPSPS y NPTII en tejido foliar y en semilla es 0,58 y 0,43 μg / gramo de peso fresco, 1,16 y 8,57 μg / gramo de peso fresco y 0,73 y 2,27 μg / gramo de peso fresco, respectivamente.

DP5415: Control no GM.

DP5415BGRR: Tolerante a glifosato y resistente a Lepidópteros.

DP5415RR: Tolerante a glifosato.

DP5415BG: Resistente a Lepidópteros.

4. Estabilidad fenotípica y genética.

4.1. Los eventos MON531 y MON1445 se introdujeron separadamente en al menos cuatro variedades de algodónero y se combinaron por cruzamiento convencional. El análisis de la descendencia demostró que la frecuencia de segregación de los eventos MON531 y MON1445 fue la esperable en las cuatro variedades: ambos eventos se encuentran integrados de manera estable y segregan de manera independiente en la progenie.

4.2 Las características fenotípicas presentes en las variedades de algodónero convencionales, se conservan en las líneas combinadas MON531xMON1445.

5. Patogenicidad para otros organismos.

5.1. Los resultados de los estudios que incluyeron conteos de plagas secundarias e insectos no-objetivo, indican que no hay diferencias de abundancia de estos organismos entre los cultivos de algodónero GM MON531xMON1445 y el convencional.

5.2 Los estudios de toxicidad aguda en ratones muestran la ausencia de efectos tóxicos de las proteínas Cry1Ac, CP4 EPSPS Y NPTII en estos mamíferos. Las proteínas Cry1Ac y CP4 EPSPS no tienen relación con toxinas conocidas y se digieren rápidamente *in vitro* en fluidos gástricos e intestinales simulados. Tampoco se encontraron efectos adversos de la proteína NPTII, ni existieron signos de anormalidades clínicas en ninguno de los grupos de ratones en los que se estudió la proteína Cry1Ac.

6. Potencial para producir impactos en el agroecosistema.

Hasta el presente no obran evidencias que permitan inferir la existencia de impactos negativos sobre el agro-ecosistema en Argentina, más allá de los que son esperables del cultivo del algodónero no GM. Esta consideración se

fundamenta en: a) la ausencia de flujo génico hacia otras especies sexualmente compatibles; b) la escasa probabilidad de ocasionar perjuicios para otras especies benéficas de la agricultura; y c) la baja probabilidad de ocasionar perjuicios derivados del contacto de la planta (como alérgeno o tóxico) con humanos o animales.

Por lo tanto, de los puntos anteriores se concluye que no hay, hasta el presente, razones documentadas que permitan inferir que el cultivo extensivo de plantas del algodón GM MON531xMON1445, pueda causar cambios significativos en las poblaciones de la fauna y flora silvestres que habitan en los agroecosistemas donde se llevará a cabo la liberación.

7. Potencial para producir efectos negativos sobre humanos.

El algodón GM MON531xMON1445 es el producto de la cruce convencional de dos eventos ya presentes en el mercado, que han sido ampliamente estudiados y que se aplican normalmente a todos los usos del algodón.

Los estudios composicionales de esta combinación, del mismo modo que para los eventos parentales, indican la equivalencia con el algodón no genéticamente modificado, así como con otras variedades comerciales.