

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN
DOCUMENTO DE DECISIÓN
ANÁLISIS DE RIESGO SOBRE EL AGROECOSISTEMA

Algodonero (*Gossypium hirsutum* L.) genéticamente modificado (GM) BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, que contiene la acumulación de los eventos BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8, BCS-GH811-4 y SYN-IR1Ø2-7 y presenta tolerancia a herbicidas inhibidores de la 4-Hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), como es el caso de Isoxaflutole (conferida por BCS-GH811-4), glufosinato de amonio (conferida por BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ5-8), glifosato (conferida por BCS-GH811-4) y protección frente al ataque de ciertas especies de insectos lepidópteros (conferida por BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8 y SYN-IR1Ø2-7). La solicitud fue presentada por BASF Argentina S.A. El presente Documento de Decisión incluye al algodón (*Gossypium hirsutum* L.) BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, a las acumulaciones intermedias de los eventos, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier algodón no GM.

INTRODUCCIÓN

A partir 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 Coordinación de Innovación y Biotecnología (ClyB) acuerdan en dar por finalizado el análisis de riesgo sobre el agroecosistema del algodón (*Gossypium hirsutum* L.) genéticamente modificado (GM) BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7.

El algodón GM BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7, que contiene la acumulación de los cuatro eventos de transformación BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8, BCS-GH811-4 y SYN-IR1Ø2-7, fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales que contienen los eventos correspondientes. Cabe mencionar que los eventos BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ5-8 y la acumulación BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GHØØ2-5 x SYN-IR1Ø2-7 fueron aprobados bajo la resolución RESOL-2019-31-APN-SAYBI#MPYT, así como los eventos BCS-GH811-4 y SYN-IR1Ø2-7 fueron aprobados bajo las resoluciones RESOL-2019-10-APN-SAYBI#MPYT y RESOL-2019-117-APN-SAYBI#MPYT, respectivamente.

Por otra parte, cabe mencionar que todas las autorizaciones otorgadas durante este proceso fueron otorgadas cumpliendo con las medidas de bioseguridad y las normativas vigentes

y con el debido control de los organismos nacionales competentes, según establecen las mencionadas normativas.

El presente Documento de Decisión incluye al algodón GM BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7, a las acumulaciones intermedias de los eventos, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier algodón no GM.

I. CARACTERIZACIÓN DEL ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

1. Nombre común y científico: Algodonero (*Gossypium hirsutum* L.)

2. Denominación del evento: BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7

3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas:

La acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7 presenta protección contra las siguientes especies de insectos lepidópteros plaga: *Heliothis virescens*, *Helicoverpa spp.*, *Pectinophora gossypiella*, *Chrysodeixis includens* y *Spodoptera spp.*, otorgada por los productos de expresión de los genes *cry1Ab* (BCS-GHØØ4-7), *cry2Ae* (BCS-GHØØ5-8) y *vip3Aa19* (SYN-IR1Ø2-7). Además, presenta tolerancia a la aplicación de herbicidas inhibidores de HPPD como el isoxaflutole, otorgada por el producto de la expresión del gen *hppdPf W336-1Pa* (BCS-GH811-4), el glifosato, otorgada por el producto de expresión del gen *2mepsps* (BCS-GH811-4) y el glufosinato de amonio, otorgada por el producto de expresión del gen *bar* (BCS-GHØØ4-7 y BCS-GHØØ5-8).

Las actividades biológicas de las proteínas HPPD W336, 2mEPSPS, PAT, Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19 se comprobaron oportunamente en instancias del análisis de riesgo de los eventos parentales correspondientes.

A su vez, el evento SYN-IR1Ø2-7 expresa la enzima APH4, utilizada como marcador de selección durante el proceso de obtención del mencionado evento.

3.1. Modo de acción de los herbicidas

El glifosato inhibe la enzima cloroplástica 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), la cual se encuentra involucrada en la ruta bioquímica del shikimato y compuestos derivados (aminoácidos aromáticos, entre otros). De esta manera, el tratamiento con 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 su normal desarrollo.

El glufosinato de amonio 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 bloquea la actividad de la enzima HPPD, implicada en la síntesis de carotenos. Esto impide la pigmentación en los cotiledones y/o hojas nuevas (de las especies blanco) que, en estas condiciones, serán incapaces de fotosintetizar.

3.2. Mecanismo de acción de los productos de expresión

Los mecanismos de acción de cada una de las proteínas responsables de conferir los fenotipos declarados, fueron evaluados oportunamente resultando en Documentos de Decisión favorables. A continuación se describen los mecanismos de acción de los eventos evaluados:

La proteína 2mEPSPS, presente en el evento BCS-GH811-4, es insensible a la inhibición por glifosato y por lo tanto conserva sus funciones en la ruta metabólica del shikimato, catalizando la transformación de fosfo-enolpiruvato (PEP) a Shikimato-3-fosfato (S3P). Esta proteína no se encuentra en animales y éste es el factor que contribuye al efecto selectivo del glifosato en plantas.

La proteína HPPD W336, presente en el evento BCS-GH811-4, confiere tolerancia a herbicidas inhibidores de la 4-Hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), como es el caso de Isoxaflutole. Las vías bioquímicas en las que participa difieren entre las plantas y organismos no fotosintéticos. En bacterias y animales, sirve meramente para propósitos catabólicos catalizando el primer paso en la degradación de la tirosina. En plantas, sin embargo, participa en varias vías anabólicas. Su producto de reacción, homogentisato (2,5- dihidroxifenilacetato), es el precursor aromático del tocoferol, éste junto con la plastoquinona son esenciales para la cadena de transporte fotosintética y los sistemas antioxidantes. En cuanto a la funcionalidad de la proteína, la misma es inhibida por la presencia de herbicidas inhibidores de las HPPD. Con el objetivo de evitar este efecto se introdujo una sustitución aminoacídica (glicina por triptófano) en la posición 336 que le confiere a la enzima insensibilidad a los herbicidas inhibidores de HPPD conservando su actividad original.

La proteína PAT (fosfinotricina-N-acetiltransferasa), presente en los eventos BCS-GH004-7 y BCS-GH005-8, confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio catalizando la conversión de L-glufosinato (un análogo del ácido L-glutámico) a su forma acetilada, la cual deja de actuar como un inhibidor de la glutamino sintetasa. Ésta es responsable de la detoxificación del amoníaco en plantas superiores. El resultado de este proceso es la tolerancia de las plantas de algodón portadoras de los eventos BCS-GH004-7 y BCS-GH005-8 al glufosinato de amonio, lo que permite un uso selectivo de herbicidas que contienen dicho principio activo.

Las proteínas Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19, presentes en los eventos BCS-GH004-7, BCS-GH005-8 y SYN-IR102-7, respectivamente, confieren protección frente al ataque de ciertas especies de insectos lepidópteros (Sección I, punto 3). Las proteínas Cry y Vip son producidas

por las cepas de *Bacillus thuringiensis* y demuestran una toxicidad específica para insectos y nemátodos. La familia de proteínas Cry no comparte secuencias homólogas con las proteínas Vip. Sus modos de acción dependen del reconocimiento de la proteína por receptores altamente específicos presentes en la microvellosidad de las células intestinales de los insectos blanco. Posteriormente, dichas proteínas se insertan en la membrana formando canales iónicos permeables a cationes que al acumularse generan un desbalance osmótico que lleva a la lisis celular con la consecuente muerte del insecto.

Se demostró en instancias de la evaluación de riesgo de los eventos individuales BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8, SYNIR1Ø2-7 y de la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, que el espectro de actividad de las proteínas Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19 se encuentra acotado al Orden Lepidoptera.

Evento	Elemento genético	Función en el OGMV
BCS-GH811-4	<i>hppdPf W336-1Pa</i>	Codifica para la proteína HPPD W336, que confiere tolerancia a herbicidas inhibidores de la 4- Hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), como es el caso de Isoxaflutole.
BCS-GH811-4	<i>2mepsps</i>	Codifica para la proteína 2mEPSPS, que confiere tolerancia a herbicidas formulados en base a glifosato.
BCS-GHØØ4-7 BCS-GHØØ5-8	<i>bar</i>	Codifica para la proteína PAT, que confiere tolerancia a herbicidas formulados en base a glufosinato de amonio.
BCS-GHØØ4-7	<i>cry1Ab</i>	Codifica para la proteína Cry1Ab, que otorga protección contra ciertos insectos lepidópteros.
BCS-GHØØ5-8	<i>cry2Ae</i>	Codifica para la proteína Cry2Ae, que otorga protección contra ciertos insectos lepidópteros.
SYN-IR1Ø2-7	<i>vip3Aa19</i>	Codifica para la proteína Vip3Aa19, que otorga protección contra ciertos insectos

		lepidópteros.
SYN-IR1Ø2-7	aph4	Las células vegetales que expresan APH4 son capaces de crecer en un medio conteniendo higromicina. Utilizado como marcador de selección en el desarrollo del evento.

Por lo descrito anteriormente es evidente que las rutas metabólicas en las que están involucradas las proteínas expresadas en estos eventos son independientes entre sí, por lo cual no se espera interacción entre ellas.

4. Modificaciones genéticas introducidas

4.1. Método de obtención del OGMV

El algodón BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7 es el resultado del cruzamiento convencional de los algodones conteniendo los eventos parentales BCS-GHØØ4-7, BCS-GHØØ5-8, BCS-GH811-4 y SYN-IR1Ø2-7.

4.2. Secuencias introducidas

La información referente a todos los eventos parentales fue evaluada detalladamente en instancias del análisis de riesgo sobre el agroecosistema de los eventos individuales, resultando en cada caso en Documentos de Decisión favorables.

A continuación, se detallan los elementos genéticos responsables del fenotipo presente en cada uno de los eventos que forman parte de la acumulación objeto de esta solicitud y su función en el OGMV:

5. Métodos de detección

La presencia de cada uno de los eventos parentales puede ser determinada molecularmente mediante PCR utilizando cebadores específicos para cada evento. En este caso, 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. Productos de expresión de las secuencias introducidas

La información referente a los niveles de expresión de los productos HPPD W336, 2mEPSPS, PAT, Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19 ha sido presentada durante el análisis de riesgo sobre el agroecosistema de cada uno de los eventos parentales, resultando en Documentos de Decisión favorables.

Dado que la acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7 ha sido obtenida por cruzamiento convencional, no se espera que los niveles de expresión de las proteínas HPPD W336, 2mEPSPS, Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19 difieran de los rangos reportados anteriormente en los eventos parentales. A su vez, tampoco se espera que los niveles de expresión de la proteína PAT difieran de los reportados en la acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8.

2. Análisis de interacción de los productos de expresión

Se analizó la posibilidad de interacción entre las proteínas HPPD W336, 2mEPSPS, PAT, Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3Aa19 y APH4 presentes en la acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7 considerando los mecanismos de acción. Las rutas metabólicas de las mencionadas proteínas que confieren protección contra ciertos insectos lepidópteros, fosforilación de la higromicina, tolerancia a los herbicidas inhibidores de la HPPD, glifosato y glufosinato de amonio, son diferentes entre sí.

A su vez, en instancias de la evaluación de riesgo de la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7, que ya cuenta con autorización comercial, se evaluó la posible interacción entre las tres proteínas insecticidas. Para ello se realizó un ensayo de laboratorio donde se utilizaron larvas de *Heliothis virescens* como insecto susceptible. Éstas fueron alimentadas con diferentes concentraciones de las tres proteínas por separado y también con distintas mezclas de las mismas. Del estudio se demostró que el efecto de la combinación de eventos es aditivo y que no hay interacción entre las proteínas.

Estos resultados tomados en conjunto constituyen evidencia consistente para inferir que no existe interacción entre las siete proteínas expresadas en la acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7.

3. Organismos no blanco

La evaluación del riesgo sobre los organismos no blanco de las proteínas insecticidas expresadas cry1Ab (BCS-GHØØ4-7), cry2Ae (BCS-GHØØ5-8) y vip3Aa19 (SYN-IR1Ø2-7) fueron realizadas oportunamente en instancia de evaluación de los mencionados eventos individuales y bajo la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7.

Dado que no hay interacción entre los productos de expresión mencionados, el riesgo sobre los organismos no blanco del apilado no difiere de los eventos y acumulados previamente analizados.

4. Formulación de posibles hipótesis de riesgo sobre el agroecosistema

Cada uno de los eventos parentales fueron evaluados en instancia de solicitudes previas concluyendo en todos los casos que:

- a) son estables genética y fenotípicamente a lo largo de las generaciones;

- b) se transfieren a la progenie siguiendo un patrón de herencia mendeliano simple;
- c) no presentan riesgo de transferencia horizontal o intercambio de genes con otros organismos;
- d) expresan productos que carecen de potencial tóxico o alergénico;
- e) no han generado nuevos marcos abiertos de lectura que representen un riesgo para el agroecosistema;
- f) no presentan diferencias biológicamente relevantes en comparación a sus contraparte convencionales salvo por la característica introducida.
- g) no presentan patogenicidad para otros organismos.

En conclusión de estas evaluaciones, la CONABIA emitió Documentos de Decisión favorables para cada uno de los eventos parentales.

A su vez, para la presente evaluación de la acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7, se formuló la hipótesis de riesgo de posible interacción entre los productos de expresión. De acuerdo a la evaluación de las rutas metabólicas implicadas en los mencionados productos HPPD W336, 2mEPSPS, PAT, Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3Aa19 y APH4 y a la información presentada para la acumulación de eventos BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 (Sección II, punto 3), se descartó la hipótesis de riesgo.

4. Plan de Manejo de Resistencia de Insectos (PMRI)

De acuerdo a lo establecido en la Resolución N° 49/2021 de la Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, el PMRI se deberá presentar para su evaluación por la ClyB y la CONABIA previamente a la inscripción de cultivares de algodón que contengan a la acumulación de los eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7, o sus combinaciones intermedias, en el Registro Nacional de Cultivares (RNC) del Instituto Nacional de Semillas (INASE). De acuerdo a lo establecido en dicha resolución, la inscripción de los mencionados cultivares quedará supeditada a la evaluación favorable del PMRI por parte de la ClyB y la CONABIA.

5. Otras consideraciones

La resolución de comercialización de la acumulación de eventos BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR1Ø2-7, y conforme lo expresado por la antes citada Resolución N° 49/2021, deberá incluir un artículo que haga mención a la restricción de inscribir cultivares de algodón que contengan a la mencionada acumulación de eventos o a sus acumulaciones intermedias en el RNC del INASE, hasta que la ClyB y la CONABIA hayan evaluado favorablemente el PMRI.

CONCLUSIÓN

Del análisis de la información presentada en relación a la acumulación de eventos BCS-GH004-7 x BCS-GH005-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR102-7, y a sus combinaciones intermedias, se evidencia que este algodón GM no presenta nuevos riesgos o riesgos incrementados respecto del cultivo convencional y, por lo tanto, su cultivo será tan seguro como el de las variedades convencionales de algodones.

Esta conclusión de la CONABIA es sobre la bioseguridad de la acumulación de eventos BCS-GH004-7 x BCS-GH005-8 x BCS-GH811-4 x SYN-IR102-7 y de sus combinaciones intermedias en el agroecosistema, sin perjuicio del cumplimiento de normativas y del buen manejo de la tecnología para la prevención de resistencia en las malezas blanco de los herbicidas vinculados a la tolerancia conferida por la acumulación de eventos.

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 17 de marzo de 2022.