
**EVALUACIÓN DE RIESGOS EN BIOSEGURIDAD (ERB)
COMITÉ DE ARTICULACIÓN INSTITUCIONAL (CAI)**

**GRUPO AD HOC SOBRE ORGANISMOS NO BLANCO
Talleres de Trabajo 2021**

El grupo *Ad hoc* de Organismos no Blanco está integrado por: Ing. Agr. M.Sc. Federico Boschi (INASE), Dra. María Valentina Mujica (INIA) y Lic. Bio. M.Sc. Andrea Listre (MGAP) y Lic. Bio. M.Sc. Dra. Claudia Elizondo (Ministerio de Ambiente)

Se estudian los riesgos asociados a la autorización para uso de producción de semilla para exportación, uso para investigación, uso para ensayos de evaluación de cultivares de INASE y uso comercial del evento en maíz 3272xBt11xMIR162xGA21.

CARACTERÍSTICAS INTRODUCIDAS

Característica/s presentes en el OVGM:

- amy797E (evento3272): Codifica para la enzima alfa amilasa (AMY797E) que hidroliza el almidón en azúcares simples (dextrina, maltosa y glucosa).
- mepsps (evento GA21): versión modificada del gen epsps de maíz, codificante para la proteína mEPSPS, que confiere tolerancia a glifosato.
- pat (evento BT11): codifica para la proteína PAT (fosfinotricina acetiltransferasa) que confiere tolerancia a glufosinato de amonio.
- vip3Aa20 (evento MIR162): codifica para la proteína Vip3Aa20, que confiere protección frente a ciertos insectos Lepidópteros.
- cry1Ab (evento BT11): codifica para la proteína Cry1Ab, que protección frente a ciertos insectos Lepidópteros.

Modo de acción de las proteínas y análisis de riesgo sobre organismos no blanco

- 3272 (OECD ID No. SYN-E3272-5) expresa la alfa amilasa AMY797E. Las alfa amilasas catalizan la hidrólisis del almidón, rompiendo enlaces alfa-1,4- glucosídicos internos de la amilosa y la amilopectina, generándose azúcares simples como dextrinas (fragmentos de almidón cuyo tamaño oscila entre 5 y 50 unidades de glucosa), maltosa y glucosa (van der Maarel et al., 2002).
- Bt11 (OECD ID No. SYN-BTØ11-1) expresa las siguientes proteínas:
 - o Cry1Ab que provee protección contra ciertos insectos Lepidópteros.

o PAT (fosfinotricina acetiltransferasa) provee tolerancia a herbicidas que contienen glufosinato de amonio.

- MIR162 (OECD ID No. SYN-IR162-4) expresa la proteína Vip3Aa20 que provee protección contra ciertos insectos Lepidópteros.
- GA21 (OECD ID No. MON-ØØØ21-9) expresa la proteína mEPSPS, que provee tolerancia al herbicida glifosato.

Las proteínas insecticidas actúan mediante interacción con receptores específicos presente solamente en las células del epitelio del intestino medio de los insectos blanco y se activan por proteólisis bajo las condiciones de ese ambiente. Esto resulta en la formación de poros catión-específicos en la membrana celular que provocan una desregulación del balance osmótico celular. Las células se hinchan y lisan, causando la parálisis y muerte de las larvas de los insectos susceptibles.

Dentro de los herbicidas, los compuestos formulados a base de fosfinotricina (como el glufosinato de amonio) actúan inhibiendo la proteína vegetal glutamina sintasa, una enzima involucrada en disminuir las concentraciones de amonio celular mediando su incorporación al aminoácido glutamina. La inhibición de esta enzima conduce a la acumulación de amonio en los tejidos vegetales causando su muerte.

La enzima PAT (fosfinotricina acetiltransferasa) cataliza la acetilación de productos formulados a base de fosfinotricina convirtiéndolos en compuestos inactivos por lo que su función evita que se inhiba la proteína vegetal glutamina sintasa. La función de la proteína PAT permite inactivar a compuestos formulados a base de fosfinotricina (como el glufosinato de amonio), detoxificar a los tejidos vegetales de los mismos y evitar que inhiban a la proteína vegetal glutamina sintasa.

La enzima mEPSPS es una versión modificada de la enzima EPSPS. Esta enzima participa en la ruta del ácido shiquímico implicado en la biosíntesis de aminoácidos aromáticos. La forma nativa es altamente sensible a los herbicidas que contienen glifosato como principio activo. El bloqueo de la actividad de esta enzima genera una faltante de aminoácidos aromáticos lo que causa la muerte de los tejidos vegetales y, por tanto, de la planta. Debido a los cambios introducidos en su secuencia, la mEPSPS es tolerante a herbicidas que contengan glifosato. Es decir, mantiene la actividad enzimática en presencia del herbicida supliendo la función de la enzima nativa en la vía metabólica de los aminoácidos aromáticos en las plantas que la expresan, permitiéndoles sobrevivir.

Posibles rutas de interacción entre las proteínas

3272xBt11xMIR162xGA21

La ausencia de interacción al acumular los eventos individuales Bt11, MIR162 y GA21 y sus productos de expresión (Cry1Ab, Vip3Aa20, PMI, PAT y mEPSPS), ya fue analizada previamente en el maíz Bt11xMIR162xGA21. Por dicho motivo se enfoca el análisis en potenciales interacciones al acumular adicionalmente el evento 3272.

El gen amy797E presente en el evento 3272 es modulado por un promotor de maíz (GZein), que dirige su expresión en el endosperma del grano. Los estudios de cuantificación de proteínas muestran que la AMY797E se expresa en grano y no está presente en otros tejidos. Además, la proteína posee una secuencia de tránsito al retículo endoplasmático en el extremo N-terminal y una secuencia SEKDEL en el extremo C-terminal que permiten orientarla y retenerla en dicho sistema de membranas, respectivamente. Por este motivo, disminuye la posibilidad de interacción directa entre AMY797E y el resto de los productos de expresión del acumulado (proteínas Cry1Ab, Vip3Aa20, PMI, PAT y mEPSPS), las cuales poseen un patrón de expresión ubicuo.

Adicionalmente, AMY797E no comparte rutas metabólicas con otros productos de expresión.

Las proteínas insecticidas actúan mediante interacción con receptores específicos en la membrana de las células intestinales del insecto blanco y se activan al ingresar al tubo digestivo. Mientras que las proteínas que confieren tolerancia a herbicidas actúan en rutas específicas y distintas como se mencionó anteriormente en la descripción del modo de acción.

En resumen, no se identificó ninguna interacción potencial con implicancias en la seguridad del producto resultante al acumular el evento 3272 con Bt11xMIR162xGA21.

Caracterización del riesgo desarrollado

Para el evento apilado Bt11xMIR162xGA21, que fue liberado comercialmente en el 2012 no se caracteriza un riesgo significativo para los organismos no blanco. Y hasta el momento no se encontraron nuevas evidencias que indiquen lo contrario.

El grupo de Organismos No Blanco no encontró información científica que indique que las enzimas sintetizadas por el evento 3272 tengan efectos tóxicos conocidos y hasta el momento no se han reportado en la bibliografía casos de que actúen como toxinas para insectos. Como complemento a esto, se realizó la búsqueda de equivalencias con reportes de toxinas para insectos en las bases de datos de: NCBI (Biblioteca Nacional de Medicina EEUU), DBAASP (Base de Datos de Actividad Antimicrobiana y Estructura de Péptidos) no encontrándose ningún resultado de efecto tóxico. Por lo tanto, se considera, que a la fecha, no existe una hipótesis de riesgo en la que pueda existir un riesgo para organismos benéficos.

Por lo tanto, el evento 3272 sintetiza enzimas no tóxicas para los organismos, dado que provienen de organismos que no presentan patogenicidad o toxicidad conocida. Por lo tanto, no hay una ruta de exposición de riesgo para los organismos no blanco.

Nivel de riesgo detectado

Se considera que el evento de maíz 3272xBt11xMIR162xGA21 presenta riesgo bajo

para organismos no blanco dado que, a la fecha, no hay evidencia de efecto negativo de las proteínas y enzimas sintetizadas como tampoco de interacción entre los productos de expresión.