

Para: Comité de Articulación Institucional (CAI) y Evaluación del Riesgo en Bioseguridad (ERB).
De: Red de evaluadores del Sistema Nacional de Bioseguridad - Grupo de Trabajo en interacciones (GTI).
Asunto: Evento apilado en Algodón T304-40XGHB119XGHB811XCOT102 (GLITP) para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento.

Fecha: 17/12/2024

Participaron en la elaboración de este informe evaluadores de los grupos ad hoc GAHCIM, GAHFG, GAHONOB y GAHSHA cuyos CV se encuentran disponibles en la oficina de Bioseguridad.

El evento apilado en Algodón **T304-40XGHB119XGHB811XCOT102** (GLITP) presenta resistencia a ciertos insectos lepidópteros y tolerancia a los herbicidas a base de glifosato, inhibidores de HPPD (como es el caso de isoxaflutole y/o mesotrione entre otros) y glufosinato de amonio.

Las proteínas expresadas son:

- PAT (del gen *bar*), que confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio, proveniente de los eventos T304-40 y GHB119.
- HPPD W336 (del gen *hppdPfw336-1Pa*) que confiere tolerancia a herbicidas inhibidores de HPPD, proveniente del evento GHB811.
- EPSPS (del gen *2mepsps*), que confiere tolerancia a glifosato, proveniente del evento GHB811.
- Cry1Ab, Cry2Ae y Vip3Aa19 (de los genes *cry1Ab*, *cry2Ae* y *vip3Aa19* respectivamente) que confieren protección frente a ciertos insectos lepidópteros, provenientes de los eventos T304-40, GHB119 y COT102 respectivamente.
- APH4 (del gen *aph4*) que confiere resistencia a higromicina, utilizada como marcador de selección en el proceso de obtención del evento COT102.

Modos de acción de las proteínas expresadas:

La proteína PAT es la enzima fosfinotricin acetiltransferasa, codificada por el gen *bar*. Es una acetiltransferasa que cataliza específicamente la acetilación de L-fosfinotricin (L-PPT) y demetilfosfinotricin (DMPT). El glufosinato de amonio es la sal de amonio de L-PPT. L-PPT y DMPT son inhibidores de la enzima glutamino sintasa (GS). Esta inhibición resulta en la acumulación de iones tóxicos de amoníaco y en una disminución de la cantidad de glutamina, un aminoácido esencial utilizado en muchos procesos anabólicos. Solamente el L-isómero es un inhibidor de la glutamino sintasa. La enzima PAT tiene la capacidad de conferir tolerancia al glufosinato de amonio como consecuencia de la acetilación y resultante desactivación de L-PPT.

La proteína HPPD W336 confiere tolerancia a herbicidas inhibidores de HPPD, como es el caso de Isoxaflutole y/o mesotrione entre otros. La proteína HPPD de la planta es inhibida por la presencia de herbicidas del grupo de los 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. Las vías bioquímicas en las que participa esta proteína difieren entre las plantas y los 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, también participa en varias vías anabólicas, siendo su producto de reacción, homogentisato (2,5-dihidroxifenilacetato), el precursor aromático del tocoferol, quien junto con la plastoquinona, son esenciales para la cadena de transporte fotosintética y los sistemas antioxidantes.

La proteína EPSPS es la enzima enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa EPSPS que se encuentra involucrada en la ruta biosintética del shiquimato al corismato, el cual es sustrato para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en plantas y microorganismos. En las plantas convencionales, el glifosato inhibe la actividad de la EPSPS endógena, por lo cual las plantas rociadas con ese herbicida ya no pueden sintetizar los aminoácidos esenciales. La enzima 2mEPSPS posee una estructura similar y la misma función que las enzimas EPSPS endógenas de las plantas (donde tienen ubicación cloroplástica), pero a diferencia de éstas, posee una afinidad reducida por el glifosato, lo que le permite conservar su actividad enzimática en presencia del herbicida.

Respecto a las proteínas Cry y Vip, son producidas por las cepas de *Bacillus thuringiensis*. Es sabido que la familia de proteínas Cry no comparte secuencia homóloga con las proteínas Vip. Las proteínas Cry y Vip demuestran una toxicidad específica para insectos y nemátodos plaga como: *Heliothis virescens*, *Helicoverpa spp.*, *Pectinophora gossypiella*, *Chrysodeixis includens*, *Spodoptera spp.*

Las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae no comparten los mismos sitios de unión en las vesículas de membrana del intestino del insecto, lo que resulta en la ausencia de interacciones del tipo sinérgicas. La proteína Vip3Aa19 también ha mostrado diferencias en cuanto a las propiedades de unión con las proteínas Cry.

En el caso de las proteínas Cry, los cristales que forman dichas proteínas son ingeridos por los insectos que consumen las partes vegetales y luego son solubilizados en el mesenterón (intestino medio) del insecto. La especificidad depende de la forma de los cristales, el pH al cual se disuelven los cristales, las enzimas proteolíticas presentes en el intestino y del reconocimiento de la proteína por receptores altamente específicos presentes en la microvellosidad de las células intestinales de los insectos blanco. Una vez disueltos los cristales en el intestino, las proteínas se liberan en forma de protoxinas que son digeridas por proteasas intestinales y transformadas en toxinas activas. Las toxinas se unen a la membrana del epitelio intestinal a través de la caderina presente en la membrana, lo que produce una cascada de señales que desencadena la muerte celular. Este proceso permite uniones a otros receptores de membrana que provocan la formación de poros en el epitelio del mesenterón, formando canales iónicos permeables a cationes que al acumularse generan un desequilibrio osmótico y la posterior lisis celular. Como consecuencia de este proceso, el tejido se daña impidiendo la asimilación y retención de compuestos vitales, y llevando a la muerte del insecto plaga.

La proteína Vip también es ingerida por el insecto al consumir las partes vegetales del cultivo. Una vez en el tubo digestivo, la proteína es activada por las proteasas intestinales. Luego, la toxina Vip,

que está formada por oligómeros, atraviesa la membrana peritrófica y reconoce receptores específicos de la membrana apical de las células epiteliales del mesenterón. La proteína Vip se une a una glicoproteína llamada tenascina. Luego se desencadenan otra serie de uniones con diferentes sitios de reconocimiento y el posterior flujo iónico que produce la formación de poros en la membrana. Esto provoca al final la lisis celular debido al cambio de la presión osmótica. Dependiendo del tipo de proteína Vip, varían levemente los sitios de interacción y la especificidad de los receptores, así como el pH intestinal del organismo, lo que determina los grupos de insectos susceptibles. En suma, los síntomas que provoca la ingesta de Vip en los insectos blanco son el cese de la alimentación, la detención de los movimientos peristálticos con la consecuente pérdida en la asimilación de nutrientes y la muerte.

La proteína APH4 (Higromicina B fosfotransferasa), proviene de *E. coli*, cataliza la fosforilación de la Higromicina B y fue utilizada como marcador de selección durante el proceso de desarrollo del evento.

El evento en algodón T304-40XGHB119XGHB811XCOT102 (GLITP) es una acumulación de eventos individuales obtenida por cruzamiento convencional de sus líneas parentales.

Estos eventos ya fueron evaluados individualmente o en otras combinaciones por el sistema regulatorio (SNB) para diferentes usos, por lo cual el presente informe se centra en la posible interacción entre los eventos individuales.

En conclusión, dado el conocimiento exhaustivo de los modos de acción de las proteínas expresadas, y la independencia de cada ruta metabólica, es posible indicar que no se esperan interacciones entre las proteínas de nueva expresión presentes en el evento apilado.

Al no ser esperables en la planta nuevos productos derivados de interacciones entre estas proteínas, no se identifica un posible daño al ambiente del evento combinado en comparación a los eventos individuales ya analizados. Por tanto, no se identifica una hipótesis de riesgo que justifique una evaluación ambiental del evento apilado.

En cuanto a la inocuidad alimentaria, no existe evidencia que indique que los eventos individuales puedan tener efectos adversos a la salud humana y animal en ninguna de las características estudiadas (aspectos nutricionales, de alergenicidad y de toxicidad) en comparación con la planta no modificada. Por otra parte, tampoco hay razones para creer que la presencia simultánea de las nuevas proteínas expresadas en el evento apilado pudiera implicar una preocupación en este mismo sentido, y por tanto se considera que no existe una hipótesis de riesgo que justifique la evaluación de la inocuidad alimentaria en el evento apilado.
