

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

De acuerdo a la normativa vigente (Decreto N° 353/008 de fecha 21 de julio de 2008 y textos modificativos Decretos N° 535/008 de fecha 3 de noviembre de 2008 y 280/009 de fecha 8 de junio de 2009), se presenta a continuación el Informe Final del análisis de la evaluación del riesgo correspondiente a la solicitud de autorización de maíz con los eventos combinados TC1507XMON810XNK603 para la producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento, expediente N°2014/7/1/1/406.

Montevideo, 26 de abril de 2017

El presente informe consta de las siguientes secciones:

- 1- Términos de referencia
- 2- Antecedentes
- 3- Conclusiones respecto a la inocuidad alimentaria
- 4- Conclusiones respecto a la seguridad ambiental
- 5- Anexos

1- TÉRMINOS DE REFERENCIA

La instancia de Evaluación del Riesgo en Bioseguridad (ERB) y el Comité de Articulación Institucional (CAI), fueron convocados por la Comisión para la Gestión del Riesgo (CGR) para analizar la evaluación de riesgo ambiental e inocuidad alimentaria asociado a la autorización para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento de maíz con los eventos apilados TC1507XMON810XNK603 (Acta CGR No. 124 del 19/02/14).

Los términos de referencia indican el análisis de la información relacionada al evento *per se* según las siguientes áreas: 1) caracterización e identificación molecular, 2) aspectos ambientales: flujo génico, capacidad de sobrevivencia e invasión de la planta transgénica o especies compatibles sexualmente, transferencia de genes planta-a-microorganismo, interacción con organismos no blanco y 3)

aspectos de inocuidad, alergenicidad, toxicidad, composición nutricional, efecto del procesamiento, nutrición animal.

Los términos de referencia también indican la identificación de medidas técnicas de manejo que puedan ser aplicadas en un sistema de gestión de la coexistencia. Coexistencia no es un área de bioseguridad sino que se relaciona con aspectos comerciales y hace a la promoción de diferentes sistemas productivos (orgánico, convencional, transgénico).

Los términos de referencia no incluyen el análisis de aspectos del paquete tecnológico asociado al evento, así como tampoco estudios de eficacia. Estas consideraciones se realizan en el ámbito de la CGR.

2- ANTECEDENTES

La empresa LA CHACRA DEL MOLINO SRL presentó los datos regulatorios e información de referencia requeridos en el Formulario de Solicitud de Autorización para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento, correspondiente al Asunto No. 2014/7/1/1/406 del 11/02/14) (Anexo 1, disponible en la Oficina de Bioseguridad).

Se trata de maíz con los eventos combinados TC1507¹, MON810² y NK603³.

El evento TC1507 expresa dos genes: el gen *Cry1F* y el gen *pat*. El gen *Cry1F* codifica la proteína Cry1F que es tóxica para ciertos insectos lepidópteros plaga del cultivo de maíz confiriéndole resistencia a dichos insectos. El gen *pat* codifica la enzima fosfotricin acetiltransferasa (proteína PAT) que confiere a la planta de maíz tolerancia al herbicida glufosinato de amonio⁴.

¹ OECD ID: DAS-01507-1

² OECD ID: MON-00810-6

³ OECD ID: MON00603-6

⁴ Híbridos de maíz transformados por ingeniería genética con el evento TC1507 expresan: el gen *Cry1F* proveniente de la bacteria de suelo *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (*Bt*), y el gen *pat* del hongo de suelo *Streptomyces viridochromogenes*.

La bacteria *Bt* produce, durante la esporulación un cristal de proteína tóxica, denominadas proteínas Cry, conocidas también como delta endotoxinas. Existen diferentes clases de proteínas Cry con distinta actividad insecticida. Al ingerirse la toxina (proteína Cry) por el insecto susceptible durante su fase larvaria, el pH alcalino del intestino determina su pasaje a la forma activa de la endotoxina, la cual se une a receptores *específicos* de las membranas epiteliales del intestino medio del insecto, lo que genera poros que desequilibran su balance osmótico causando eventualmente su muerte. En el evento TC1507 se

El evento MON810 expresa el gen *cry1Ab* que codifica la proteína Cry1Ab. La proteína Cry1Ab es una proteína tóxica que actúa de manera selectiva en ciertos insectos lepidópteros susceptibles que son plaga del cultivo de maíz, confiriéndole resistencia a dichos insectos⁵.

El evento NK603 expresa el gen *cp4 epsps*, que codifica la proteína 5-enol-pyruvylshikimato-3-fosfato sintetasa (CP4 EPSPS) que confiere tolerancia al herbicida glifosato⁶.

Los eventos TC1507, MON810 y NK603 han sido analizados previamente por la autoridad competente en forma individual y combinados con otros eventos. En el Cuadro 1 se indica la fecha de dichas autorizaciones y Resolución GNBio que corresponde según uso autorizado.

expresa la proteína Cry1F que confiere protección contra: en especial el “barrenador del tallo de maíz” (*Diatraea saccharalis*), pero también la “oruga cogollera” (*Spodoptera frugiperda*).

El gen *pat* codifica la enzima fosfinotricin acetiltransferasa (proteína PAT) que produce una acetilación sobre el herbicida glufosinato de amonio inactivándolo y de esa forma las plantas de maíz mantienen su metabolismo en presencia de glufosinato. El glufosinato inhibe a la enzima glutamino sintasa provocando acumulación de amonio en los tejidos de la planta lo cual es tóxico y determina su muerte.

⁵ Híbridos de maíz transformados por ingeniería genética con el evento MON810 expresan: el gen Cry1Ab proveniente de la bacteria de suelo *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Bt). La bacteria Bt produce, durante la esporulación un cristal de proteína tóxica, denominadas proteínas Cry, conocidas también como delta endotoxinas. En el evento MON810 se expresa la proteína Cry1Ab que confiere protección contra determinados insectos lepidópteros susceptibles, en especial *Diatraea saccharalis* (“barrenador del tallo de maíz”), pero también *Spodoptera frugiperda* (“oruga cogollera”) y *Helicoverpa zea*.

⁶ Híbridos de maíz transformados por ingeniería genética con el evento NK603 contienen un inserto con dos copias del gen 5-enol-pyruvylshikimato-3-fosfato sintetasa, proveniente de la bacteria *Agrobacterium* sp. cepa CP4 (*cp4 epsps*), que codifican las proteínas CP4 EPSPS y CP4 EPSPS L214P. Las secuencias de los genes *cp4 epsps* difieren en dos nucleótidos. Ambas proteínas CP4 EPSPS expresadas, son estructural y funcionalmente equivalentes (información que se verifica en Dossier). La proteína EPSPS es una enzima que participa en el proceso de síntesis del ácido shikímico involucrado en la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina y triptófano). El glifosato (principio activo de la familia RoundUp de herbicidas de uso agrícola) inhibe a la enzima EPSPS endógena de la planta bloqueándose la biosíntesis de aminoácidos aromáticos. El gen *cp4 epsps* fue modificado logrando que la enzima EPSPS presente una disminución en la afinidad por la molécula de glifosato, haciendo a las plantas de maíz tolerante al glifosato. La proteína CP4 EPSPS transgénica es estructuralmente similar y funcionalmente idéntica a la enzima endógena de planta EPSPS pero con reducida afinidad por el glifosato. La introducción del gen *cp4 epsps* permite a las plantas de maíz producir aminoácidos aromáticos esenciales para el crecimiento y desarrollo en presencia de glifosato.

Cuadro 1: Autorizaciones en Uruguay por la autoridad competente de los eventos TC1507, MON810 y NK603 en forma individual y combinados.

Uso autorizado	Evento	No. Res. GNBio	Fecha
Ensayos para el Registro Nacional de Cultivares	TC1507	5	31/08/2009
	NK603	3	31/08/2009
	TC1507XNK603	4	31/08/2009
	MON810XNK603	12	08/10/2010
	TC1507XMON810XNK603	69	13/10/2015
Ensayos de investigación	NK603	14	08/10/2010
	MON810XNK603	13	08/10/2010
Comercial	MON810	32	21/06/2011
	TC1507	27	21/06/2011
	NK603	30	21/06/2011
	MON810XNK603	31	21/06/2011
	TC1507XNK603	48	19/09/2012

El Cuadro 2 indica los países que han autorizado los eventos TC1507, MON810 y NK603 para su cultivo y/o consumo humano y animal en forma individual o combinados.

Cuadro 2. Autorizaciones en otros países de los eventos TC1507, MON810 y NK603. Autorización comercial implica que tiene autorización para su cultivo, consumo humano y animal.

Evento	Autorización comercial	Autorización consumo humano y animal
TC1507	Estados Unidos (2001) Canadá (2002) Japón (2002) Argentina (2005) Brasil (2008) Uruguay (2011)	Sudáfrica (2002) México (2003) Filipinas (2003) China (2004) Korea (2004) Unión Europea (2006) El Salvador (2009)
MON810	Estados Unidos (1995) Japón (1996) Canadá (1997) Sud Africa (1997) Unión Europea (1998) Argentina (1998) Filipinas (2002) Uruguay (2003) Brasil (2007)	Australia (2000) Suiza (2000) China (2004) Korea (2004) Rusia (2009) Malaysia (2010) México (2010) Vietnam (2015)
NK603	Estados Unidos (2000) Canadá (2001) Japón (2001) Sud Africa (2002) Argentina (2004) Filipinas (2005) Brasil (2008) Uruguay (2011)	México (2002) Unión Europea (2004) Korea (2004) China (2005) El Salvador (2009)
TC1507MON810	Estados Unidos (2001) Canadá (2002) Brasil (2011) Colombia (2012) Argentina (2013) Sud África (2014) Filipinas (2014)	México (2010) Korea (2014)
TC1507XNK603	Estados Unidos (2001) Japón (2004) Canadá (2006) Argentina (2008) Colombia (2009) Brasil (2009) Honduras (2010) Uruguay (2012) Filipinas (2014)	México (2004) Unión Europea (2007) Korea (2008) Sud África (2011)
MON810XNK603	Estados Unidos (2000) Canadá (2001) Japón (2004) Filipinas (2005) Sud África (2007) Argentina (2007) Brasil (2009) Uruguay (2011)	México (2004) Unión Europea (2007) El Salvador (2009)
TC1507XMON810XNK603	Estados Unidos (2001) Canadá (2011)	México (2010)

	Brasil (2011) Japón (2011) Colombia (2012) Argentina (2013) Filipinas (2014) Sud África (2014)	
--	---	--

De acuerdo a los términos de referencia, correspondió la participación de todas las instituciones del CAI: Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP), Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente (MVOTMA), Ministerio de Salud Pública (MSP), Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Instituto Nacional de Semillas (INASE), Universidad de la República (UdelaR), Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), e Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) e Instituto Pasteur de Montevideo (IP).

A su vez correspondió la participación en el análisis de los Grupos *Ad Hoc* sobre: caracterización e identificación molecular (GAHCIM), flujo génico (GAHFG), impacto sobre organismos no blanco (GAHONOB) y salud humana y animal (GAHSHA).

El proceso consistió en el análisis de la información brindada por el solicitante en el dossier (Anexo 1), revisión de la bibliografía e información adicional presentada (Anexo 2), revisión de los informes ERB-CAI elaborados para estos mismos eventos. A su vez se recopiló y analizaron informes de decisión oficiales publicados por otros países con relación a éstos eventos y bibliografía científica relacionada. Por tratarse de un evento apilado, se incluyó el análisis de la información que confirma la estabilidad de los eventos, su expresión y posibles interacciones entre los eventos apilados. Finalmente, teniendo en cuenta los Informes de los Grupos Ad Hoc y del CAI (Anexos 3 al 12), la ERB elaboró las conclusiones del análisis realizado que figuran en las secciones 3 y 4 de este informe.

La ERB recibió la opinión de las siguientes instituciones del CAI, cuyos informes figuran en los anexos de este informe: INASE (Anexo 7), INIA (Anexo 8), MVOTMA (Anexo 9), MGAP (Anexo 10), LATU (Anexo 11) e IP (Anexo 12).

3- CONCLUSIONES RESPECTO A LA INOCUIDAD ALIMENTARIA

En el informe del Grupo Ad Hoc sobre inocuidad y en los informes CAI de aquellas instituciones que participaron de este análisis (Anexos 6, 10, 11 y 12), no se

identifica un riesgo significativo asociado al consumo humano y animal de los eventos combinados en maíz TC1507XMON810XNK603.

4- CONCLUSIONES RESPECTO A LA SEGURIDAD AMBIENTAL

Caracterización e identificación molecular. Se verificó que los eventos combinados TC1507XMON810XNK603 cuentan con una caracterización molecular completa del ADN insertado y sus regiones flanqueantes. Son suficientes las evidencias aportadas respecto a la estabilidad genética de la modificación. Se dispone de la información evento específico para su identificación molecular (Anexos 1, 2 y 3).

Capacidad de supervivencia e invasión de la planta genéticamente modificada. El maíz está altamente domesticado siendo difíciles su diseminación y supervivencia sin la intervención del hombre. La especie no tiene características que la clasifiquen como invasora, maleza o potencial maleza. Las características morfológicas de la inflorescencia y el manejo del cultivo hacen que sea muy baja la probabilidad de ocurrencia de plantas creciendo en forma silvestre. Si se cumplen ciertas condiciones ambientales de temperatura y humedad puede darse su crecimiento como planta voluntaria al año siguiente de su cultivo. Sin embargo no suele sobrevivir si queda en el campo durante el invierno y en caso de ocurrir su establecimiento puede ser controlado mecánica o químicamente con graminicidas específicos.

Las características de tolerancia a insectos y herbicidas de por sí no confieren una ventaja competitiva al maíz que adquiera comportamiento de maleza o planta invasora de hábitat naturales. La característica de resistencia a insectos, podría otorgar una ventaja competitiva en el ecosistema si existen especies emparentadas compatibles (ver siguiente ítem) y la plaga es un factor limitante para la dispersión de la población. En el caso de tolerancia a herbicida existirá una ventaja competitiva en aquellos ambientes donde se aplique el herbicida para el cual confiere tolerancia, en este caso a base de glufosinato de amonio y/o glifosato.

Se verificó sobre la base de los antecedentes presentados por el solicitante, informes de decisión de otros países y bibliografía científica relacionada, que los eventos TC1507XMON810XNK603 no han modificado sus características reproductivas, de diseminación o supervivencia incluyendo la producción y viabilidad del polen respecto a su contraparte convencional (Anexo 1 y 5).

Flujo génico planta-a-planta (transferencia vertical de genes). El maíz es una especie esencialmente de polinización cruzada típicamente anemófila por lo que se debe considerar en especial el riesgo de flujo génico a través del polen. Posibles formas de exposición del evento TC1507XMON810XNK603 a través del polen en

floración incluyen: cruzamientos con especies emparentadas y compatibles, con cultivares no genéticamente modificados y con plantas voluntarias de un cultivo previo. De estas posibilidades, el primer caso implicaría un riesgo para la biodiversidad y en especial si existieran especies emparentadas que son malezas del cultivo. Sin embargo, se verificó en el GAHFG que *el riesgo de cruzamiento con especies locales emparentadas no es considerable para nuestro país por no existir especies relativas emparentadas que representen un riesgo para el cruzamiento*⁷ (Anexos 1 y 5).

El impacto de cruzamientos con híbridos no genéticamente modificados se discute en el marco de la coexistencia.

Transferencia de genes desde la planta a microorganismos (transferencia horizontal de genes). La transferencia horizontal de genes puede considerarse un proceso altamente improbable ya sea bajo condiciones naturales en el suelo o en el tracto digestivo de humanos y animales. El evento TC1507XMON810XNK603 no modifica dicha capacidad con referencia al maíz convencional (Anexo 1). De ocurrir la transferencia de genes hacia bacteria y que el gen se exprese, no conferirían una ventaja de selección y no cambiaría el pool de genes por ya estar presentes en la microflora del suelo o ser común en la naturaleza (Anexo 1).

Interacción con organismos no blanco. No son esperables riesgos significativos de impacto sobre organismos no blanco. Las evidencias disponibles tanto para ensayos a campo o para liberación comercial (antecedentes presentados por el solicitante, informes de decisión de otros países, bibliografía consultada), no identifican impactos negativos del evento TC1507XMON810XNK603 sobre organismos no blanco (Anexos 1 y 4).

Respecto a la tolerancia a herbicida sería necesario disponer de los mecanismos de control para la correcta aplicación del paquete tecnológico con el objetivo de minimizar la aparición de poblaciones de malezas resistentes (Anexos 1 y 4). Entre las medidas para prevenir la aparición de tolerancia al herbicida se destacan el

⁷ *Zea mays (Andropogoneae) es una especie originada y domesticada en dos centros independientes posiblemente, México y Andes centrales (Perú) (Purseglove 1981, Tovar 1993). La flora de gramíneas para Uruguay comprende aproximadamente 17 géneros de la tribu Andropogoneae (Burkart 1969, Rosengurt et al. 1970, Zuloaga et al. 1994), que no incluyen especies relativas emparentadas que representen riesgo para el cruzamiento. Las especies más cercanas taxonómicamente son las especies del género Sorghum y Coix. El primero de ellos incluye especies cultivadas principalmente para alimentación de animales. Algunas de ellas son utilizadas como borde del cultivo de maíz para captar polen, actuando como trampa de polen y evitando la dispersión del mismo a mayor distancia del cultivo. Coix es un género que es incluido por algunos autores junto a Zea y otros seis géneros de Asia y América tropical en la tribu Maydeae (Rosengurt et al. 1970, Burkart 1969). En Uruguay se cultiva escasamente la especie Coix lacrymajobi, de origen asiático, cuyo fruto es utilizado para la confección de artesanías. (GAHFG).*

manejo en la aplicación de herbicida, rotación de cultivos, rotaciones de componentes activos para control de malezas, medidas de mitigación y manejo de la resistencia (Anexo 4).

Coexistencia. Del análisis realizado sobre medidas técnicas para garantizar la coexistencia se concluye que es posible la aplicación de medidas de aislamiento físico y/o temporal⁸. Dichas medidas deben ajustarse en función de: las condiciones ambientales⁹ y el umbral de tolerancia de presencia de eventos transgénicos autorizados, lo cual dependerá de cada situación. Se vio posible la aplicación de los criterios de aislamiento utilizados en producción de semilla en tanto se genera nueva información. La dispersión del polen por el viento y la frecuencia de cruzamientos no debería ser diferente a la que pueda ocurrir en variedades de maíz convencionales para las cuales por ejemplo se aconsejan 300 m de distancia de aislamiento para los ensayos de producción de semilla menores a 10 hectáreas (<http://www.inase.org.uy/files/docs/25BB79E6854C90F0.htm>). Estas medidas se corresponden con estándares equivalentes a los vigentes en el sistema OECD de certificación de semilla.

Por otro lado, se identificó como principal fuente de exposición, la mezcla física en siembra, maquinación, transporte, almacenaje y procesamiento para lo cual se hace necesario un sistema de trazabilidad en la producción de semilla o grano que garantice la segregación del producto.

⁸ Entre las medidas de aislamiento se incluyen: distancia absoluta entre cultivos, barreras intermedias con otro cultivo (por ejemplo sorgo) o hileras del cultivo para atrapar el polen, desfasaje en las fechas de siembra, desfasaje en los ciclos de los cultivos para evitar coincidencia en la etapa de polinización.

⁹ *El ajuste de las medidas de aislamiento físico debe realizarse para el ambiente donde será liberado el evento genéticamente modificado. La aerodinámica del polen está condicionada por la forma y extensión del cultivo, las condiciones ambientales (especialmente los vientos) y la topografía del lugar. A su vez, el grado de cruzamiento entre las plantas va a estar condicionado además por aspectos biológicos y funcionales, como la duración de la viabilidad del polen y del período de receptividad de los estigmas. Estas características, además de tener un componente genético, se ven afectadas por factores ambientales, especialmente la temperatura y humedad ambiente (GAHFG).*

Informes CAI:

En respuesta a lo consultado por la CGR en los términos de referencia, INASE, INIA, MVOTMA, MGAP, LATU e IP, no identifican un riesgo significativo en el evento apilado en maíz TC1507XMON810XNK603 para su producción y uso comercial (Anexos 7 al 12 respectivamente).

La ERB concluye:

Las consideraciones expuestas, antecedentes y evidencias disponibles permiten considerar al maíz con los eventos TC1507XMON810XNK603 equivalente a su contraparte no genéticamente modificada en cuanto a su composición y comportamiento agronómico, excepto por las características introducidas. No hay indicaciones que los eventos en maíz TC1507XMON810XNK603 puedan causar efectos adversos significativos sobre el ambiente en el contexto de su uso propuesto. La ERB no presenta objeciones desde el punto de vista de la seguridad ambiental respecto a la producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento de maíz con los eventos TC1507XMON810XNK603.

El impacto del paquete tecnológico asociado a la modificación genética está por fuera del alcance de ésta evaluación de riesgos según se indica en los términos de referencia. Sin embargo, se enfatiza la importancia de que se apliquen prácticas agrícolas que ayuden a disminuir la vulnerabilidad ambiental que suele asociarse al monocultivo de paquetes basados en la aplicación de un único componente activo para control de malezas (Anexo 9).

5- ANEXOS

1. Formulario de Solicitud de Autorización del evento en maíz TC1507XMON810XNK603 para liberación comercial (disponible en la Oficina de Bioseguridad).
2. Información adicional solicitada (disponible en la Oficina de Bioseguridad).
3. Informe Grupo Ad-Hoc Caracterización e Identificación Molecular (GAHCIM).
4. Informe Grupo Ad-Hoc Organismos No Blanco (GAHONOB).
5. Informe Grupo Ad-Hoc Flujo Génico (GAHFG).
6. Informe Grupo Ad-Hoc Salud Humana y Animal (GAHSHA)
7. Informe CAI- INASE.
8. Informe CAI- INIA.
9. Informe CAI- MVOTMA.
10. Informe CAI- MGAP.
11. Informe CAI- LATU.
12. Informe CAI-IP.

Ing. Agr. PhD Alejandra Ferenczi
Evaluación de Riesgos en Bioseguridad (ERB)