

COMISION PARA LA GESTION DEL RIESGO (CGR)
MGAP MVOTMA MSP MEF MIEM MRREE

**SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA LA INTRODUCCIÓN, USO Y
MANIPULACIÓN DE ORGANISMOS VEGETALES GENÉTICAMENTE
MODIFICADOS (OVGM)**

Decreto 353/008 y Textos Modificativos Decretos 535/008 y 280/009

ANEXO 1
RESUMEN NO CONFIDENCIAL PARA INFORMAR A LA CIUDADANÍA

Evento CV127
Soja Tolerante a imidazolinonas
Identificador Único OECD: BPS-CV127-9

Compañía solicitante:
BASF Uruguay S.A.
Avda. Luis A. de Herrera 1248. WTC - Torre A Of. 801,
11300 Montevideo, Uruguay

FECHA:
Septiembre 2011

ANEXO 1 RESUMEN NO CONFIDENCIAL PARA INFORMAR A LA CIUDADANÍA.

Brinde un resumen de la solicitud de autorización con información no confidencial para ser utilizado en la instancia de información y consulta pública.

1. **Solicitante (nombre, domicilio):**

Nombre: BASF Uruguay S.A.

Domicilio: Avda. Luis A. de Herrera 1248. WTC - Torre A Of. 801, 11300 Montevideo, Uruguay

2. **Representante Legal del Solicitante (nombre, domicilio):**

Nombre: Laura Tagliaferro / Gustavo Sancristóbal

Domicilio legal: Avda. Luis A. de Herrera 1248. WTC - Torre A Of. 801, 11300 Montevideo, Uruguay

3. **Responsable Técnico del Solicitante (nombre, domicilio):**

Nombre: Martín Piriz

Domicilio: Avda. Luis A. de Herrera 1248. WTC - Torre A Of. 801, 11300 Montevideo, Uruguay

4. **OVGM objeto de la presente solicitud.**

a. **Nombre científico:**

b. **Nombre común:**

c. **Evento/Eventos apilados:**

d. **Característica/s introducidas (indicar el producto de la expresión génica y el mecanismo involucrado en la generación del fenotipo deseado, especificar si la/s características introducidas se manifiestan en etapas puntuales del desarrollo y/o en tejidos específicos del vegetal).**

La soja conteniendo el evento BPS-CV127-9 (de ahora en adelante denominada soja o evento CV127) expresa el gen *ahas1* de la subunidad mayor de la acetohidroxiácido sintasa de *Arabidopsis thaliana* (AtAHASL), que a lo largo de este expediente, es referido como el gen *csr1-2*. La subunidad mayor de la proteína acetohidroxiácido sintasa (AtAHASL) de *A. thaliana* es tolerante a la clase de herbicidas agrícolas imidazolinonas. Esta proteína se expresa de forma constitutiva. La proteína AHASL de *A. thaliana* pertenece a la clase de las enzimas acetohidroxiácido sintasas (AHAS), que se encuentra en todas las plantas. La enzima AHASL cataliza el primer paso en la biosíntesis de aminoácidos de cadena ramificada como: la valina, leucina e isoleucina. Por lo general, la inhibición de la enzima AHASL por herbicidas a base de imidazolinonas provoca una deficiencia de aminoácidos de cadena ramificada y otros compuestos derivados de esta ruta que son necesarios para el crecimiento y supervivencia de la planta, y dando como resultado la muerte de la planta. En la soja CV127, la subunidad AHASL codificada por el gen *csr1-2*, tiene alterado el sitio de unión entre la proteína y el herbicida, de modo tal que los herbicidas que contienen imidazolinonas no se unen a la proteína con lo que ésta mantiene su función biosintética normal en la planta y generando de este modo una soja tolerante a la clase de herbicidas agrícolas imidazolinonas.

5. **Tipo de liberación solicitada:**

Liberación para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento

6. Indicar si es una solicitud nueva o reiteración (incluir n° expediente):

Constituye una nueva solicitud

7. Descripción del objetivo del ensayo o liberación comercial e indicar cuál será el uso del OVG:

La tolerancia a herbicidas de la soja CV127 permitirá a quienes la cultivan tratar el cultivo de soja con herbicidas a base de imidazolinonas para el control de malezas, sin causar daño a la planta de soja, cuando se utiliza la dosis normal de aplicación en el campo. La introducción de variedades de soja CV127, ofrecerá a los productores, una herramienta adicional para el control de malezas, así como una opción importante en el manejo de resistencia a malezas. La rotación de cultivos tolerantes a diferentes clases de herbicidas en combinación con la aplicación de los herbicidas correspondientes es una estrategia eficaz para el manejo del desarrollo de resistencia a herbicidas en las poblaciones de malezas.

8. Historia de Uso y Familiaridad de los genes o secuencias introducidas en el mismo u otros cultivos¹:

Se han descubierto varios genes *ahas/* en plantas que codifican enzimas AHASL tolerantes a herbicidas a base de imidazolinonas, en forma de mutaciones que ocurren naturalmente (espontáneas) y/o a través del proceso de mutagénesis inducidas químicamente. Varios cultivos tolerantes a herbicidas imidazolinonas, que producen enzimas AHASL con la misma sustitución de serina a asparagina en el residuo 653, han sido comercializados y cultivados durante muchos años sin efectos adversos sobre el medioambiente o sobre la salud. Dichos cultivos han sido obtenidos por métodos convencionales (cruzamientos y mutaciones inducidas) y se han comercializado bajo el nombre comercial Clearfield® e incluyen el maíz (*Zea mays* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), canola (*Brassica napus* L.) y girasol (*Helianthus annuus* L.). Sin embargo, mediante estos métodos de modificación genética, no se han podido lograr niveles comerciales de tolerancia a los herbicidas imidazolinonas conteniendo los ingredientes activos Imazapir y/o Imazapic en soja. Por lo tanto, BASF ha utilizado tecnología de ingeniería genética en plantas para introducir el gen *csr1-2* de *Arabidopsis thaliana* que otorga tolerancia a herbicidas

Existe un largo historial de producción segura de los cultivos que producen una proteína AHASL tolerante a la clase de herbicidas agrícolas imidazolinonas con la misma sustitución aminoacídica S653N que se encuentra en la proteína AtAHASL codificada por el gen *csr1-2* presente en la soja CV127. Estos cultivos han sido utilizados para producir alimentos para humanos y animales, los cuales han mostrado ser tan nutritivos y tan seguros como los productos similares producidos a partir de cultivos convencionales.

En cuanto a la soja CV127, los análisis de equivalencia substancial, aptitud alimentaria, alergenicidad, toxicidad y agrónomicos, presentados en diversas secciones de la solicitud en cuestión (Liberación para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento) demuestran que es equivalente a su contraparte convencional, a excepción de la tolerancia a imidazolinonas. Toda esa información confirma la inocuidad de la soja CV127 para el consumo humano y animal como así también que no representa un riesgo potencial para el medio ambiente. Es por ello que puede aseverarse que la soja transgénica tolerante a la

clase de herbicidas agrícolas imidazolinonas es comparable a los cultivos tolerantes a imidazolinonas obtenidos por métodos convencionales de los cuales se tiene amplia historia de uso y consumo.

9. **Inocuidad Alimentaria²:** Explicado en punto 10 (a continuación) de la solicitud en cuestión.

10. Identificación y descripción de posibles efectos sobre el ambiente³:

La seguridad para el medio ambiente y la inocuidad alimentaria de soja CV127 para consumo humano y animal, fue confirmada en base a los resultados de una serie de estudios interrelacionados que se realizaron en el marco de una evaluación de riesgos. En primer lugar, se realizó la caracterización molecular de la soja CV127, la cual confirmó que ésta contiene un único casete del gen *csr1-2* funcional, integrado en el genoma de la misma. En segundo lugar, la caracterización bioquímica de la enzima AtAHASL, tolerante a la clase de herbicidas agrícolas imidazolinonas, que se expresa en la soja CV127, demostró que esta enzima es similar a otras enzimas de la familia AHAS, y a la mayoría de enzimas alimenticias con un historial de uso seguro en productos para consumo humano y animal, no presentando característica alguna asociada con las proteínas alergénicas o tóxicas conocidas. En tercer lugar, extensas evaluaciones fenotípicas y agronómicas, así como de las interacciones ecológicas de soja CV127 muestran que el cultivo de soja CV127 no supone ningún tipo de potencial plaga o maleza y no constituye un mayor impacto ambiental potencial que el cultivo de soja convencional. En cuarto lugar, la equivalencia composicional y nutricional de la soja CV127 en comparación con la soja convencional fue demostrada mediante el análisis de los nutrientes y antinutrientes clave; tanto en grano como forraje y también se confirmó la equivalencia nutricional con variedades convencionales de soja mediante un estudio de alimentación en aves. Finalmente, un estudio de toxicidad subcrónica en ratas demostró la seguridad y propiedades nutricionales de la soja CV127 en comparación con la soja convencional. Los resultados de estos estudios demuestran que la soja CV127 es tan segura como su contraparte convencional para ser usada como alimento humano y animal.

Se realizó una caracterización molecular completa del inserto presente en soja CV127 usando diversos métodos que incluyeron el método de *Southern blot*, así como la secuenciación del ADN. El casete de expresión del gen *csr1-2* se integró en un único locus del genoma de la soja. No se detectaron secuencias de ADN del esqueleto del vector de transformación en soja CV127. Además, se demostró que no hubo fragmentos adicionales de ADN derivados del plásmido de transformación que se hayan insertado en el genoma de

¹ Incluir número total de autorizaciones y/o rechazos en otros países y tipo de liberaciones, indicar si hubo algún efecto no deseado o no esperado (adverso o benéfico) en las liberaciones realizadas.

² Implica un resumen de la información presentada en el formulario sobre: toxicidad, alergenicidad, patogenicidad, cambios nutricionales y de composición, digestibilidad y productos de la digestión, estabilidad del gen y su producto en el alimento, destino de los genes y sus productos en el procesamiento de la materia prima, etc.

³ Implica un resumen de la información presentada en el formulario para determinar efectos sobre: biodiversidad, organismos no blanco, generación especie invasora/maleza, generación de resistencia (insectos/malezas).

la soja CV127. El método de *Southern blot* demostró que la integración del transgén en el genoma de soja CV127 es estable a lo largo de las generaciones de cruce estudiadas. Esta conclusión se confirmó en un estudio de herencia de la característica de tolerancia a las imidazolinonas durante varias generaciones de cruces de soja CV127. Los resultados de este estudio demostraron que la característica se hereda de forma estable de acuerdo con la genética Mendeliana clásica, y los resultados fueron consistentes con la presencia de un único gen dominante de tolerancia a las imidazolinonas en el genoma de la soja.

La seguridad para el ambiente y para consumo humano y animal de la enzima AtAHASL expresada en soja CV127 se comprobó mediante estudios que confirmaron que esta enzima es tan inocua como la convencional y tiene un historial de uso seguro en productos alimenticios. Las plantas de soja CV127 se cultivaron en ensayos de campo replicados en varias localidades, en dos campañas diferentes en Brasil y una campaña en Argentina. Se tomaron muestras del tejido de soja CV127 y de la isolínea control, en diferentes etapas de crecimiento durante la campaña de cultivo. Estas muestras se analizaron por un Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) para determinar la cantidad de la enzima AHAS presente en los tejidos. Los niveles de la enzima AHAS fueron, en la mayoría de los casos, menores de 1 ppm (parte por millón) en tejido seco, y disminuyeron conforme al envejecimiento de las plantas. Los resultados de este estudio demostraron que los niveles totales de AHAS en los tejidos de soja CV127 son muy bajos y consistentes a lo largo de los diferentes ambientes de crecimiento elegidos en Brasil y Argentina, así como en las diferentes variedades utilizadas (variedades de diferentes grupos de madurez). Los granos de soja CV127 y de la isolínea control, cultivados en ensayos de campo en Brasil y Argentina, se procesaron utilizando métodos estándar para el procesamiento de granos de soja para la obtención de aceite, harina, aislado proteínico y fracciones concentradas. Cada fracción procesada se analizó con ELISA para determinar los niveles de expresión de la enzima AHAS. Los resultados de estos análisis demostraron que la enzima AHAS, incluyendo la AtAHASL codificada por el gen *csr1-2* y la AHAS endógena de la soja, no se detectaron en ninguna de las fracciones procesadas, producidas a partir del grano de la soja CV127 (límite de detección de 6-9 ng/g de peso seco). Estos resultados además confirmaron que la enzima AtAHASL está presente en niveles extremadamente bajos en las fracciones procesadas de grano de soja CV127 que se usan en alimentos para humanos y animales.

La seguridad de la enzima AtAHASL para consumo humano y animal, se evaluó por diversos métodos. Primero, la enzima AtAHASL se degradó fácilmente en condiciones simuladas gástricas de mamíferos, y fue fácilmente inactivada mediante tratamiento con calor, propiedades típicas de las proteínas incluidas en la dieta con historial de uso seguro como alimento. Segundo, la enzima AtAHASL no provocó ningún efecto adverso al ser administrada a ratones por sonda nasogástrica con un nivel sin efectos observables (No Observable Effect Level, NOEL) igual o mayor que 2620 mg de la enzima AtAHASL/kg de peso corporal, el nivel de dosis más alto evaluado. Suponiendo que todos los granos de soja consumidos contienen la proteína AtAHASL esta dosis corresponde a aproximadamente un factor relativo de seguridad de 10^8 veces el consumo diario promedio humano de proteínas procedentes de soja incluso en Corea del sur, el país con el mayor consumo de soja en el este asiático. Por último, se realizaron análisis bioinformáticos mediante búsquedas en bases de datos de todas las proteínas conocidas, incluyendo toxinas, así como de proteínas alergénicas conocidas y se confirmó que la enzima AtAHASL expresada en la soja CV127 no comparte estructura o segmentos de secuencias de aminoácidos inmunológicamente relevantes con alérgenos conocidos, ni existe homología de secuencia con toxinas

conocidas. Por lo tanto, la enzima AtAHASL expresada en los tejidos de la soja CV127 no posee ningún atributo de alérgenos alimenticios conocidos, no es tóxica para los mamíferos y por consiguiente, no presenta riesgos para su consumo humano o animal.

Los análisis de composición del grano y del forraje demostraron que la soja CV127 es equivalente composicional y nutricionalmente, además de ser tan segura como su contraparte convencional. Para estos análisis, se cosecharon muestras del grano y forraje de la soja CV127, isolínea control y variedades convencionales de soja comercial, de los diferentes ensayos de campo realizados en ensayos realizados en múltiples localidades en Brasil en dos campañas diferentes. Adicionalmente se cosecharon muestras de granos de ensayos de campo realizados en Argentina durante una campaña. Los análisis estadísticos de los datos de composición de los granos y del forraje de soja CV127 tratada con herbicida a base de imidazolinonas, del control y de variedades convencionales de soja comercial, demostraron que la composición del grano y del forraje de la soja CV127 es comparable a la del control y de las variedades convencionales de soja, inclusive a lo largo de diferentes ambientes de cultivo en Brasil y Argentina como también en materiales con diferentes fondo genético (grupos de madurez IV y VIII). También, en un estudio por separado, se llevó a cabo un análisis proteómico enfocado en alérgenos endógenos conocidos que se encuentran presentes en el grano de soja, usando soja CV127 y la isolínea control. Dentro del nivel de error inherente a este estudio, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de alérgenos detectados en el grano de la soja CV127 y la variedad control.

Adicionalmente, el grano de soja CV127 y de la isolínea control, se procesaron utilizando métodos estándar para el procesamiento de granos de soja para la obtención de aceite, harina y aislado de proteínas, y se analizó la composición de estas fracciones. Este estudio demostró que las fracciones procesadas derivadas del grano de la soja CV127 tienen una composición equivalente a la del grano del control y que la soja CV127 es apropiada para su uso en productos alimenticios para humanos y animales. Además, la equivalencia nutricional de la soja CV127 con el control y las variedades de soja convencional se confirmó en un estudio de alimentación en aves de corral; se llevó a cabo un ensayo de alimentación de 42 días con pollos parrilleros para comparar el desempeño de los animales alimentados con harina de soja CV127 y con el de los animales alimentados con harina de granos de soja convencional. Este estudio comprobó que no hubo diferencias significativas en el desempeño de los animales alimentados con harina de soja CV127 en comparación con aquellos alimentados con harina del grano de sojas convencionales. En forma colectiva, estos resultados comprueban que el grano y el forraje producidos con la soja CV127 tienen una composición equivalente y son tan nutritivos como el grano y el forraje producidos con la soja control y otras variedades de soja convencional.

Por otra parte, la seguridad para el medio ambiente de soja CV127 se demostró que era comparable a su isolínea control y a otras variedades de soja convencional a través de la evaluación de las características fenotípicas, agronómicas y de interacción ecológica. Se realizaron ensayos de campo con soja CV127 en siete localidades diferentes en Brasil durante la campaña de 2006/2007; en seis localidades en Brasil durante la campaña de 2007; y en dos localidades (tres fechas de plantación) en Argentina durante la campaña 2008/2009. Los sitios de ensayo de campo fueron representativos de las diferentes regiones dentro de Brasil y Argentina, respectivamente, donde la soja es cultivada comercialmente y cada localidad consistió en cuatro repeticiones de soja CV127, la isolínea control y las variedades convencionales de soja, en un diseño de bloques al azar. Además, los ensayos

realizados en Argentina también incluyeron líneas de soja CV127 de grupos diferentes de madurez (IV y VIII) para demostrar las características son equivalentes en variedades con diferente fondo genético. Durante la campaña de cultivo, se evaluaron las características agronómicas importantes, incluyendo la tasa de germinación de semillas, días en llegar a las etapas de desarrollo clave, la altura de la planta, la susceptibilidad de insectos y enfermedades, el tipo o la cantidad de nematodos, microfauna, macrofauna y rendimiento de grano. Además, se evaluó el impacto del cultivo de soja CV127 sobre los factores relevantes de simbiosis con *Bradyrhizobium* para la fijación de nitrógeno en ensayos en Brasil y comparando la soja CV127, con la isolínea control y variedades de soja convencional. Además, estudios de laboratorio y en invernadero sobre la germinación de semillas, número de polen y germinación y comparaciones de estas características en soja CV127 con la isolínea control y las otras variedades de soja convencional. Los resultados de estos estudios comparativos demostraron que no hay diferencias biológicamente significativas entre la soja CV127 y la isolínea control y variedades de soja convencional con respecto a los parámetros medidos como se describió anteriormente, a excepción de la tolerancia a los herbicidas imidazolinonas. Por lo tanto, estos resultados refuerzan la conclusión de que no hubo cambios en el fenotipo ni en las interacciones ecológicas que indiquen incremento del potencial plaga o maleza del evento de soja CV127 en comparación con la isolínea control y variedades convencionales y que el cultivo de soja CV127 no supone un impacto ambiental diferente a la isolínea control ni a otras variedades convencionales de soja.

En resumen, todos los estudios mencionados, comprueban que a excepción de la tolerancia a los herbicidas a base de imidazolinonas, la soja CV127 es equivalente a la soja control y a otras variedades convencionales de soja comercial y que tiene las mismas características nutricionales como la soja convencional, la cual presenta una larga historia de cultivo y uso seguro como alimentos y piensos, y que el cultivo de soja CV127 no supone un impacto ambiental diferente a la isolínea control ni a otras variedades convencionales de soja.

11. Fecha de presentación de esta solicitud:
Septiembre de 2011

----fin anexo 1-----