

DOCUMENTO DE DECISIÓN

Evaluación de la aptitud alimentaria de los eventos de Alfalfa:

MON-00179-5 x MON-00101-8

MON-00179-5

MON-00101-8



Dirección de Calidad Agroalimentaria

Elaborado por:

Coordinación de Biotecnología y Productos Industrializados

INDICE

RESUMEN Y ANTECEDENTES	2
EVALUACIÓN	3
1 – Historia de uso y especificación del evento de transformación.....	3
2 - Estabilidad genética y caracterización molecular.	3
3 –Patrón y niveles de expresión	4
4 – Análisis Composicional.....	4
5 – Alergenicidad.....	5
7 - Interacciones metabólicas	6
8 – Conclusión.....	6
9 – Normativa y recomendaciones	6

RESUMEN Y ANTECEDENTES

El proceso de evaluación de riesgo alimentario de eventos de transformación, producto de la biotecnología moderna, lo realiza el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), organismo regulador dependiente del Ministerio de Agroindustria.

La Dirección de Calidad Agroalimentaria del SENASA, es el área responsable de llevar a cabo esta función, contando para ello con un equipo científico y el asesoramiento de un Comité Técnico Asesor, compuesto por expertos de diversas disciplinas científicas, representando a los distintos sectores vinculados a la producción, industrialización, consumo, investigación y desarrollo de organismos genéticamente modificados.

El 26 de noviembre de 2015 se recibe la solicitud del Instituto de Agrobiotecnología Rosario S.A. para la realización de la evaluación de aptitud alimentaria humana y animal del evento de transformación de alfalfa MON-ØØ179-5 x MON-ØØ1Ø1-8 tolerante al herbicida glifosato y con expresión reducida de lignina.

Se realizó una revisión de la solicitud a los efectos de corroborar el cumplimiento de lo establecido en la Resolución SENASA N° 412/02, normativa que establece los criterios y requisitos de evaluación de aptitud alimentaria humana y animal de organismos genéticamente modificados.

La información presentada fue analizada en primera instancia por el equipo técnico específico, luego fue sometida a evaluación del Comité Técnico Asesor. Finalmente la Dirección de Calidad Agroalimentaria evaluó nuevamente, en tercera instancia, y concluye en el presente documento.

Por lo tanto, la Dirección de Calidad Agroalimentaria (DICA) como resultado del proceso de evaluación de aptitud alimentaria realizado por la Coordinación de Biotecnología y Productos Industrializados y el asesoramiento del Comité Técnico

sobre el uso de Organismos Genéticamente Modificados del SENASA (acta del 19/10/2017) concluye que los productos derivados de materiales que contengan los eventos de transformación MON-ØØ179-5 x MON-ØØ1Ø1-8, MON-ØØ179-5 y MON-ØØ1Ø1-8 son aptos para el consumo humano y animal, no revisten riesgos agregados o incrementados por efecto de la transgénesis, más allá de los inherentes al alimento en cuestión y cumplen con los criterios y requisitos establecidos en la resolución SENASA N° 412/2002 y por el Codex Alimentarius FAO/OMS.

EVALUACIÓN

Los citados eventos, fueron evaluados siguiendo los lineamientos expuestos en la Resolución SENASA N° 412/02, sobre los “Fundamentos y Criterios para la Evaluación de Alimentos Derivados de Organismos Genéticamente Modificados”, los “Requisitos y Normas de Procedimiento para la Evaluación de la Aptitud Alimentaria Humana y Animal de los Alimentos derivados de Organismos Genéticamente Modificados”, y la “Información Requerida” para dicha evaluación. La citada Resolución contempla los criterios previstos por el Codex Alimentarius FAO/OMS. La evaluación fue realizada utilizando la información suministrada en la solicitud Anexo III, junto a información adicional solicitada y consultas a expertos, para establecer la aptitud alimentaria para consumo humano y animal.

1 – Historia de uso y especificación del evento de transformación

La alfalfa ha sido cultivada con anterioridad a los registros históricos, y crece actualmente en estado silvestre en Asia, Europa y el norte de África. Se ha aclimatado en Sudáfrica, Australia, Nueva Zelanda, y Norte y Sud América. La más antigua referencia al uso de alfalfa como forraje data del 3000 aC.

Las plantas de alfalfa portadoras del evento MON-ØØ179-5 x MON-ØØ1Ø1-8, fueron obtenidas mediante cruzamiento convencional de líneas portadoras de los eventos individuales: MON-ØØ179-5 y MON-ØØ1Ø1-8.

Los eventos evaluados fueron obtenidos por transformación mediada por *A. tumefaciens* y expresan las siguientes proteínas:

Genes principales	Organismo Donante	Proteína expresada	Función
<i>CCOMT</i>	<i>Medicago sativa</i>	<i>CCOMT</i>	Inhibición de la síntesis de lignina
<i>cp4mepsps</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	CP4epsps	Confiere tolerancia a glifosato.

2 - Estabilidad genética y caracterización molecular.

El conjunto de los resultados de los análisis de Southern blot permiten concluir que el evento MON-ØØ179-5 y MON-ØØ1Ø1-8 contienen una única copia del cassette de expresión en un único sitio de integración, y que todos los elementos genéticos del

cassette de expresión se encuentran presentes. A la vez, demuestra la ausencia de secuencias del esqueleto del plásmido y que no se interrumpieron secuencias endógenas. La estabilidad genotípica del ADN insertado en la alfalfa MON-ØØ179-5 y MON-ØØ1Ø1-8 fue analizada mediante análisis de Southern blot a lo largo de cuatro generaciones demostrando que los insertos se mantienen estables a través de múltiples generaciones.

Los eventos apilados alfalfa MON-ØØ179-5 x MON-ØØ1Ø1-8 fueron obtenidos por cruzamiento convencional de los eventos parentales, los estudios presentados demuestran que los elementos genéticos no sufrieron modificaciones producto de la acumulación y se expresan de forma adecuada.

3 – Patrón y niveles de expresión

La concentración de proteína CP4 EPSPS en la alfalfa MON-ØØ179-5 x MON-ØØ1Ø1-8 fue determinada en muestras provenientes de cinco ensayos a campo realizados en EEUU durante el año 2010-2012. La concentración promedio de la proteína en el evento acumulado fue 140 ± 29 µg/g de tejido fresco (Mozaffar, 2013, MSL 25345). En estos mismos ensayos, el nivel de CP4 EPSPS en el evento individual parental MON-ØØ1Ø1-8 fue de 140 ± 51 µg/g de tejido fresco.

4 – Análisis Composicional

El solicitante presentó información acerca del análisis composicional realizado sobre forraje de alfalfa. Las muestras del evento, el control y las variedades convencionales de referencia se obtuvieron de seis ensayos a campo realizados en un amplio rango de localidades dentro de EEUU durante la campaña 2011 (Breeze y col., 2012, MSL 23848). Cuatro variedades de referencia se incluyeron en cada sitio, para proveer los datos de la variabilidad natural de cada componente analizado. Cada sitio de producción tenía entonces seis entradas: el evento, el control y cuatro referencias. Los sitios se plantaron con un diseño de bloques completos al azar, con cuatro bloques por sitio. Los cultivos se condujeron bajo las condiciones agronómicas normales para las respectivas regiones geográficas.

Las diferencias entre los valores encontrados con las muestras del evento y de la variedad control fueron evaluadas en el contexto de: a) la magnitud de esas diferencias; b) el rango de valores representativo de la variabilidad natural de la composición; c) la consistencia de los datos obtenidos entre los sitios; y d) su significado biológico. Cuando se tienen en cuenta estas condiciones, la conclusión que puede extraerse de los análisis realizados es que el forraje proveniente de la alfalfa MON-ØØ179-5 x MON-ØØ1Ø1-8 tiene una composición equivalente a la del forraje producido por las variedades convencionales.

Las diferencias observadas se limitaron a unos pocos analitos (hierro, fenilalanina libre, ácido p-cumárico y ácido zánhico). Sin embargo, en todos los casos, los niveles estuvieron dentro del intervalo de tolerancia de las variedades comerciales y/o dentro del rango observado en la literatura y, por lo tanto, carecen de significado biológico desde la perspectiva de la seguridad alimentaria. En resumen, los resultados muestran que la alfalfa MON-ØØ179-5 x MON-ØØ1Ø1-8 es composicionalmente equivalente a la alfalfa convencional, con la excepción del cambio intencional de la reducción del contenido de lignina

Aptitud Nutricional

Dado que los resultados del análisis composicional demostraron que la modificación genética en la acumulación de eventos MON-ØØ179-5 x MON-ØØ1Ø1-8 no contribuye significativamente a la variación de los niveles de los componentes analizados (excepto a la modificación en el contenido de lignina de acuerdo al fenotipo esperado), se confirma la equivalencia con el control convencional. Por lo tanto, el criterio de exigencia específico (casos de ausencia de equivalencia sustancial) no se justifica en este caso.

5 – Alergenicidad

Homología con alérgenos o toxinas:

El nuevo producto de expresión en el evento MON-ØØ179-5 es un ARN. Por lo tanto, forma parte habitual de la dieta de humanos, sin que se hayan reportado fenómenos de alergenidad específicos asociados a su consumo. Por otra parte, la proteína CP4 EPSPS (aportada por el evento MON-ØØ1Ø1-8) no muestra similitud de secuencia o estructural con proteínas alérgicas o tóxicas.

La posible similitud de la secuencia de la proteína CP4 EPSPS con toxinas y alérgenos conocidos, ha sido examinada en el proceso de revisión y aprobación de diversos eventos de cultivos GM que la expresan. En todos los casos, la conclusión de la revisión y la fundamentación de la consecuente decisión de aprobación, señalan la ausencia de similitud con alérgenos o toxinas.

Para evaluar la eventual aparición de nuevos productos de expresión generados a partir de la modificación genética insertada, se analizaron las secuencias quiméricas formadas por los extremos del inserto y el ADN genómico adyacente.

Para el evento MON-ØØ1Ø1-8 se encontraron así diez secuencias potencialmente codificantes provenientes de los flancos ubicados a cada lado del inserto, todas ellas de menos de 50 aminoácidos. Cuatro de ellas provenientes de la secuencia flanqueante 5' y seis a partir del flanco 3'. Utilizando el algoritmo FASTA, se analizó la similitud de estas secuencias con las de péptidos y proteínas, alérgenos o toxinas conocidas agrupados en las bases de datos AD_2014, TOX_2014 y PRT_2014.

Para el evento MON-ØØ179-5 se encontraron así diez secuencias potencialmente codificantes, todas ellas con menos de 60 aminoácidos, cinco provenientes de cada uno de los flancos. La secuencia de estos péptidos potenciales fue analizada con el algoritmo FASTA y las bases de datos AD_2014, TOX_2014 y PRT_2014.

Las homologías se analizaron comparando las secuencias contenidas en una ventana corrediza de 80 aminoácidos o de 8 aminoácidos. Utilizando estos criterios, ninguno de los péptidos putativos resultó poseer una homología superior a 35% (en tramos de 80 aminoácidos) con los alérgenos registrados en esa base de datos, ni identidades con epítopes alérgicos (8 aminoácidos).

7 - Interacciones metabólicas

Los estudios presentados confirman que el cruzamiento convencional de las líneas conteniendo los eventos individuales, no resulta en cambios inesperados, que no hubo cambios fenotípicos, composicionales, nutricionales y que las proteínas introducidas en los eventos simples no comparten rutas metabólicas o modos de acción, concluyendo que es improbable la existencia de mecanismos de interacción entre los elementos genéticos que afecten la expresión de las nuevas proteínas.

8 – Conclusión

Luego de haber realizado la evaluación completa de riesgo alimentario a la información suministrada por el Instituto de Agrobiotecnología Rosario S.A.

- Los estudios de caracterización molecular demuestran que los insertos de cada evento individual se han mantenido de forma estable en el genoma de la planta luego del cruzamiento convencional.
- Las proteínas de nueva expresión se encuentran en bajos niveles.
- Es sustancial y nutricionalmente equivalente a su contraparte no transgénica (excepto por el menor contenido de lignina).
- No se encontró evidencia de similitud u homología con proteínas tóxicas conocidas.
- No se encuentra evidencia de expresión de sustancias alergénicas conocidas para las proteínas expresadas en el evento apilado.
- No hay evidencia que indique efectos de interacción entre los elementos genéticos de los eventos cuando están acumulados.

Se concluye que los eventos de alfalfa evaluados son sustancialmente equivalentes a su contraparte convencional, por lo tanto, tan seguros y no menos nutritivos que la alfalfa convencional.

De acuerdo a lo anteriormente descrito, y en función del conocimiento científico actualmente disponible y de los requisitos y criterios internacionalmente aceptados, no se encuentran reparos para la aprobación para consumo humano y animal de los eventos de alfalfa: MON-ØØ179-5 x MON-ØØ1Ø1-8; MON-ØØ179-5 y MON-ØØ1Ø1-8.

9 – Normativa y recomendaciones

- Resolución SENASA N° 1265/99.
- Resolución SENASA N° 412/02.

- Principios para el análisis de riesgos de alimentos obtenidos por medios biotecnológico modernos (CAC/GL 44-2003).
- Directrices para la realización de la evaluación de la inocuidad de los alimentos obtenidos de plantas de ADN Recombinante (CAC/GL 45-2003).
- Consensus Document's for the work on the Safety of Novel Foods and Feeds (OECD).
- Resolución MAGyP N° 763/2011.
- Base de datos ILSI 2007.
- Base de datos de Alérgenos (FARRP database).



Ing. Agr. JUAN C. BATISTA
DIRECTOR de CALIDAD AGROALIMENTARIA
SENASA