

## **DOCUMENTO DE DECISIÓN**

**Evaluación de la aptitud alimentaria del evento de trigo IND-412-7  
(IND-ØØ412-7)**



**Dirección de Calidad Agroalimentaria**

**Coordinación de Biotecnología y productos Industrializados**

## INDICE

RESUMEN Y ANTECEDENTES .....	3
EVALUACIÓN .....	3
1 – Historia de uso alimentario y especificación del evento de transformación .....	4
2- Organismos donantes y genes introducidos .....	4
3 - Caracterización molecular y estabilidad genética .....	5
4 –Productos y niveles de expresión.....	5
5 – Características de las proteínas y función biológica.....	6
6 – Análisis Composicional .....	6
7 - Alergenicidad .....	7
8 – Toxicidad .....	7
8 - Conclusión.....	7
9 - Normativa y recomendaciones .....	8

## 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 de profesionales especializados y el asesoramiento del Comité Técnico Asesor *ad honórem* sobre uso de Organismos Genéticamente Modificados, compuesto por expertos de diversas disciplinas, representando a los distintos sectores vinculados a la producción, industrialización, consumo, investigación y desarrollo de organismos genéticamente modificados.

El 6 de junio del 2014 se recibe solicitud de la empresa INDEAR S.A., expediente EXP-S05-0032156/2014, para la realización de la evaluación de aptitud alimentaria humana y animal del evento de transformación de trigo IND-412-7, con fenotipo de tolerancia a estreses ambientales y tolerancia a herbicidas basados en glufosinato de amonio.

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 y luego fue sometida a evaluación del Comité Técnico Asesor, el cual concluyó mediante acta del día 17/03/2016, que en función del conocimiento científico disponible y de los requisitos y criterios internacionalmente aceptados, no se encuentran reparos para la aprobación del evento de trigo IND-412-7 para consumo humano y animal.

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 concluye que los productos derivados de materiales que contengan el evento de transformación de trigo IND-412-7, 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

El trigo IND-412-7, con fenotipo de tolerancia a estreses ambientales y tolerancia a herbicidas basados en glufosinato de amonio, fue evaluado 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 determinar la aptitud alimentaria para consumo humano y animal.

## **1 – Historia de uso alimentario y especificación del evento de transformación**

El cultivo de trigo y su uso como alimento cuentan con antecedentes que datan del año 10.000 aC. El primer trigo cultivado transcurrió alrededor de 10 milenios atrás constituyendo la Revolución del Neolítico, la cual originó una transición de la caza y recolección de alimentos a la agricultura sedentaria. El cultivo se extendió a Oriente aproximadamente 9 milenios atrás, cuando el trigo harinero hexaploide hizo su primera aparición.

Existen en el trigo factores que inducen respuestas inmunológicas en los humanos o tienen propiedades anti-nutricionales que en casos extremos pueden tener efectos tóxicos. La enteropatía gluten-sensible, llamada "enfermedad celíaca" o “celiaquía”, es un desorden de etiología multifactorial en la que el factor desencadenante es el gluten, causada por la ingestión de la fracción de gliadina. A su vez, el trigo contiene compuestos con acción anti-nutricional no enzimática, como ácido fítico. El ácido fítico es la principal forma de almacenamiento del fósforo en los cereales y legumbres. Su efecto anti-nutricional se debe a su capacidad de formar quelatos con cationes como calcio, magnesio, zinc y hierro, reduciendo significativamente su biodisponibilidad. Estos fitatos no pueden ser asimilados por humanos, los que tienen una capacidad limitada para hidrolizarlos.

El trigo IND-412-7 expresa el fenotipo tolerancia a herbicidas basados en glufosinato de amonio y de tolerancia a estreses ambientales. Esta última característica produce un efecto de mantenimiento del rendimiento ante condiciones ambientales adversas.

La tolerancia a estrés ambiental (especialmente a estrés hídrico), se produce mediante el mantenimiento del metabolismo de las plantas transgénicas al disminuir su sensibilidad al etileno. En condiciones de estrés ambiental, las plantas de trigo IND-412-7 detienen su crecimiento pero se retrasa la entrada al estado reproductivo, por lo que su área foliar no entra en senescencia. Esto lleva a que cuando se restablece la disponibilidad de agua, las hojas vuelvan a fotosintetizar, y de esta manera logran obtener un mejor rendimiento que el trigo convencional.

## **2- Organismos donantes y genes introducidos**

*HaHB4 (Helianthus annuus homeobox 4):* Girasol (*Helianthus annuus*)  
*bar: Streptomyces hygrosopicus*

Los organismos donantes cuentan con historial de uso alimentario y sus características alergénicas y toxicológicas no representan una preocupación para la salud humana o animal.

### 3 - Caracterización molecular y estabilidad genética

El método para la obtención del evento fue el de biobalística, mediante el bombardeo de partículas de oro recubiertas con el ADN de ambos plásmidos de interés, pIND4-HB4 y pIND4-Bar.

Los genes y las secuencias regulatorias insertadas se encuentran formando parte de dos insertos en un único locus en el genoma del trigo portador del evento. Uno de ellos de 47.611 pb (inserto “largo”) y otro de 20.418 pb (inserto “corto”). Se encuentran compuestos por dos copias completas de la secuencia codificante del marcador de selección *bar* (segmentos a y d del inserto largo), secuencia codificante completa *HaHB4* (segmento b del inserto largo), y sus respectivas secuencias reguladoras. Componentes no intencionales de los vectores de ADN están presentes en IND-412-7, como ser la presencia de secuencias de los vectores plasmídicos y otras regiones codificantes no relacionadas con los genes y regiones reguladoras de interés (copias incompletas y/o no funcionales de: secuencias codificantes de interés, *bla* y *gus*), introducidas durante el proceso de transformación del trigo. No obstante, es importante mencionar que las secuencias codificantes carecen de los elementos reguladores para su expresión en trigo.

Los estudios presentados que afirman estas conclusiones fueron un análisis de transferencia Southern como una secuenciación de próxima generación (NGS). Se utilizó la tecnología Diversity Arrays (DArT) para localizar los sitios de inserción con precisión dentro del cromosoma 2D.

Esta información y un enfoque de NGS específico de cromosoma permitieron la determinación concurrente de 1) las secuencias y estructuras completas de las inserciones y 2) las secuencias flanqueantes asociadas a la inserción. Por otro lado, el locus de las inserciones demostró ser estable y su integridad conservada en la progenie de cruces sexuales en plantas F2, y se hereda de acuerdo con los principios de herencia mendeliana.

Del análisis de los ORF y péptidos putativos, se descartaron potenciales efectos alergénicos o tóxicos de los 67 péptidos de más de 100 aa identificados.

### 4 –Productos y niveles de expresión

El inserto de ADN permite la expresión de los siguientes productos:

Genes principales	Org. Donante	Proteína expresada	Función
<i>HaHB4</i>	Girasol ( <i>Helianthus annuus</i> )	HAHB4	Tolerancia a estrés ambiental
<i>bar</i>	<i>Streptomyces</i>	PAT	Marcador de

	<i>hygroscopicus</i>		selección y tolerancia al herbicida glufosinato de amonio
--	----------------------	--	---

El nivel de expresión de HAHB4 es extremadamente bajo (como todo factor de transcripción), detectable pero no cuantificable ( $\leq 0.02$  ng/g peso seco). La exposición al consumo es insignificante. En cuanto a la proteína PAT, el mayor nivel se observó en tallo y fue de 12,67  $\mu$ g/g peso fresco.

Los nuevos productos se expresan en bajos niveles, lo cual determina un bajo nivel de exposición.

### 5 – Características de las proteínas y función biológica

El evento expresa la proteína HAHB4, el cual es un factor de transcripción codificado por el gen *HaHB4*, y es responsable del fenotipo de tolerancia a estrés ambiental. También expresa la proteína PAT codificada por el gen *bar*, actuando como marcador de selección y brindando tolerancia al herbicida glufosinato de amonio.

La proteína HAHB4 es un factor de transcripción natural de girasol, cultivo que ha sido parte de la alimentación humana desde hace siglos y que no se ha identificado como una fuente significativa de alérgenos. Pertenece a la subfamilia HD-Zip I, cuya expresión está positivamente regulada por estreses hídrico y salino, y por la presencia de las hormonas ácido abscísico, etileno y ácido jasmónico.

La proteína HAHB4 de girasol difiere ligeramente de la expresada en el evento, pero esa diferencia no tiene efectos sobre las propiedades de la proteína HAHB4 desde la perspectiva alimentaria, por lo que se considera que el nuevo producto de expresión tiene historia de consumo seguro. La proteína PAT tiene historial de aprobación y consumo seguro.

### 6 – Análisis Composicional

Para los estudios composicionales la empresa presentó un análisis composicional en donde se realizaron diseños a campo en Bloques Completos al Azar en 6 localidades de Argentina, utilizando 5 variedades comerciales de referencia y un control (línea parental no transgénica Var. Cadenza).

Se midieron y analizaron 44 analitos en grano y 10 en forraje, teniendo en cuenta los documentos de consenso de composición de la OECD. En los estudios se evidencian que, si bien se encontraron algunas diferencias estadísticamente significativas en la comparación del evento con su contraparte no genéticamente modificada y con el rango de las variedades de referencia, la mayor parte de los valores obtenidos estuvieron dentro del rango de la literatura científica y/o dentro del rango de las variedades comerciales. En los casos en donde los valores no estuvieron dentro de estos rangos mencionados, no fueron consistentes a través de las localidades, por lo que las diferencias encontradas no fueron consideradas biológicamente relevantes.

El análisis composicional confirma la equivalencia composicional del evento comparado con su contraparte no genéticamente modificada.

## **7 - Alergenicidad**

La proteína HAHB4 es termoestable a las temperaturas ensayadas (60°, 75° y 90°C medidas a 10, 30 y 60 min). No obstante ello, no presenta homología con alérgenos (estudios bioinformáticos), se degrada rápidamente en FGS, es improbable que se glicosile (por la ausencia de sitios aceptores de N- y O- glicosilación y de señal de transporte al retículo endoplasmático) y posee historial de consumo. Todo el “peso de la evidencia” analizado en relación a la proteína expresada, descarta a la alergenidad como hipótesis de riesgo alimentario.

La proteína PAT posee antecedentes de evaluación satisfactoria en Argentina en otros eventos.

## **8 – Toxicidad**

En relación al potencial toxicológico de la proteína HAHB4, ésta no evidencia riesgos en base a: I) historia de uso seguro, II) análisis bioinformáticos de toxinas y alérgenos, III) modo de acción, IV) digestibilidad y estabilidad *in vitro*, y V) nivel de expresión e ingesta dietaria diaria. Dado que es suficiente la evidencia que se conoce sobre la proteína HAHB4 en relación a su historia de consumo y familiaridad con los factores de transcripción, modo de acción y niveles de expresión, no se hace necesario solicitar estudios adicionales de toxicidad en animales ni ensayos de alimentación utilizando el alimento completo.

La proteína PAT posee antecedentes de evaluación satisfactoria en Argentina en otros eventos.

## **8 - Conclusión**

Luego de haber realizado la evaluación completa de riesgo alimentario a la información suministrada por la empresa INDEAR S.A. y teniendo en cuenta que:

- Los estudios de caracterización molecular demuestran que los insertos del evento se han mantenido de forma estable en el genoma de la planta luego de cruzamiento convencional.
- Las proteínas de nueva expresión en grano se expresan en bajos niveles.
- Es sustancial y nutricionalmente equivalente a su contraparte no transgénica.
- No se encontró evidencia de similitud u homología con proteínas tóxicas conocidas.
- No se encuentra evidencia de expresión de sustancias alérgicas conocidas para las proteínas expresadas en el evento.

Se concluye que el evento de trigo IND-412-7, con fenotipo de tolerancia a estreses ambientales y tolerancia a herbicidas basados en glufosinato de amonio, es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional y, por lo tanto, es tan seguro y no menos nutritivo que las variedades de trigo comerciales.

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 del evento de trigo IND-412-7.

## **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° 701/2011.
- Base de datos ILSI.