

EVALUACION DE RIESGOS DE SOYA MON87708 x MON89788 x A5547-127 PARA CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

Nombre del solicitante Compañía Agrícola S.A.S	Nombre del contacto Manuel Rivas
Dirección del solicitante Avenida Calle 100 N° 7-33 Piso 5, oficina 502, Bogotá	Dirección del contacto Avenida Calle 100 N° 7-33 Piso 5, oficina 502, Bogotá
Nombre del producto (Identificador Único y otros nombre) Identificador OECD: MON-87708-9 x MON-89788-1 x ACS-GM006-4 Otros Nombres: Soya MON87708 x MON89788 x A5547-127	
Objetivo de la solicitud Solicitud de aprobación para utilizar la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
Aprobaciones y usos en otros países: El evento MON87708 ha sido aprobado en Australia, Canadá, China, Unión Europea, Indonesia, Japón, México, Nueva Zelanda, Filipinas, Corea del Sur, Taiwán, Turquía, Estados Unidos y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento MON89788 ha sido aprobado en Argentina, Australia, Canadá, China, Costa Rica, Unión Europea, Indonesia, Japón, Malasia, México, Nueva Zelanda, Filipinas, Federación Rusa, Singapur, Sur África, Corea del Sur, Taiwán, Tailandia, Turquía, Estados Unidos, Uruguay y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento A5547-127 ha sido aprobado en Argentina, Australia, Brasil, Canadá, China, Unión Europea, India, Japón, Malasia, México, Nueva Zelanda, Filipinas, Federación Rusa, Singapur, Corea del Sur, Taiwán, Turquía, Estados Unidos, Uruguay y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento MON87708 x MON89788 ha sido aprobado en Brasil, Unión Europea, Japón, México, Corea del Sur y Uruguay para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento MON87708 x MON89788 x A5547-127 aún no tiene aprobación en ningún país del mundo.	
Algún otro uso aprobado en el país: El evento MON87708 x MON89788 x A5547-127 se encuentra en estudio ante el CTN Salud. Los eventos individuales y algunas combinaciones tienen aprobación para consumo humano y animal.	

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores:

Familia: Fabaceae

Género: *Glycine*

Especie: *Glycine max* L Merrill

Cultivar/línea: Cruce entre líneas portadoras de los eventos MON87708, MON89788 y A5547-127

Nombre común: Soya

2. Descripción de la modificación genética:

El evento de soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 se logró por cruzamiento convencional de líneas portadoras de los eventos MON87708, MON89788 y A5547-127 continuación se describe cada uno de los eventos individuales:

Evento MON87708

El evento MON87708 se obtuvo por transformación mediada por *Agrobacterium* usando tejido meristemático de embriones de semillas de la soya cultivar A3525 germinadas. Se usó el vector binario PVGMHT4355 que contenía dos casetes de expresión génica. El primer casete contenía la secuencia codificante del gen *dmo* aislado de *Stenotrophomonas maltophilia*, regulada por el promotor PC1SV del *peanut chlorotic streak caulimovirus* y la señal de poliadenilación, de la región 3' no traducida del gen *E9* de *pisum sativum*. El segundo casete contenía el gen *cp4-epsps* que confiere tolerancia al herbicida glifosato, sin embargo este fue eliminado mediante cruzamientos convencionales.

Evento MON89788

El evento MON89788 se obtuvo por transformación mediada por *A. tumefaciens*, usando tejido meristemático de la variedad elite Asgrow (A3244). Para la transformación, se usó el plásmido PVGMGOX20 que contiene un casete de expresión con la secuencia codificante del gen *cp4epsps*, aislado de la bacteria *A. tumefaciens*, cuyo regulador es un promotor chimérico (P-FMV/Tsf1), formado a partir del promotor del gen *Tsf1* de *Arabidopsis thaliana* y secuencias tipo *enhancer* del virus del mosaico de las escrofulariáceas. Este inserto también contiene la secuencia líder y una secuencia intrónica del gen *Tsf1* de *A. thaliana* y el péptido de tránsito CPT2 del gen *ShkG* de *A. thaliana* que dirige la proteína CP4 EPSPS al cloroplasto. La señal de poliadenilación se deriva de la región 3' no traducida del gen *RbcS2* de *P. sativum*.

Evento A5547-127

La soya A5547-127 se desarrolló mediante transformación por Biolística. El vector utilizado para la obtención del evento de estas soyas fue derivado del plásmido pUC19. En él se insertó el borde derecho (RB) del plásmido pTiAch5 de *Agrobacterium* y el gen *pat* fusionado al promotor y terminador 35S provenientes ambos del virus del mosaico de la coliflor.

El gen *pat* fue producido de forma sintética utilizando una secuencia de nucleótidos proveniente de *Streptomyces viridochromogenes*, la cual fue modificada, con el fin de que se sintetizaran codones típicos de la fosfotricin-acetil-transferasa (*pat*) presente en los vegetales.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Tipo de modificación genética

<i>Inserción</i>	<i>Deleción</i>	<i>Sustitución de bases</i>	<i>Fusión celular</i>	<i>Otro:</i> <i>Convencional</i>
------------------	-----------------	-----------------------------	-----------------------	-------------------------------------

2. Método usado para transformar la planta:

El evento de soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 se logró por cruzamiento convencional de líneas portadoras de los eventos MON87708, MON89788 y A5547-127

3. Fuente y función pretendida de cada constituyente del fragmento de ADN insertado

Funciones de cada elemento del T-DNA insertado en cada uno de los parentales:

Evento MON87708

Elemento	Posición	Función
T-DNA I		
Borde Derecho	8290 - 8646	ADN de <i>A. tumefaciens</i> con la secuencia del borde derecho usada para la transferencia del T-DNA
Intrón	8647 - 8691	Secuencia usada en clonación de ADN
P-PC1SV	8692-9124	Promotor del FLt (Full -Length Transcript) de Peanut chlorotic streak caulimovirus
Intrón	9125-9144	Secuencia usada en clonación de ADN
L-TEV	9145 -9276	Secuencia líder 5' no traducida tomada del genoma de Tobacco etch virus
Intrón	9277	Secuencia usada en clonación de ADN
TS-RbcS	9278 - 9520	Secuencia que codifica para el péptido de tránsito y los primeros 24 aminoácidos del gen RbcS de <i>P. sativum</i> para su transporte al cloroplasto
Intrón	9521 - 9529	Secuencia usada en clonación de ADN
CS-dmo	9530-10552	Secuencia codificante del gen dicamba mono-oxygenase (DMO) de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Intrón	10553 - 10620	Secuencia usada en clonación de ADN
T-E9	10621-11263	Región y no traducida del gen RbcS2 de <i>P. sativum</i> para dirigir la poliadenilación.
Intrón	11264-11352	Secuencia usada en clonación de ADN
Borde izquierdo	1-442	ADN de <i>A. tumefaciens</i> con la secuencia del borde izquierdo usada para la transferencia del T-DNA
Esqueleto del vector (No presente en MON87708)		
Intrón	443 - 528	Secuencia usada en clonación de ADN
OR – ori V	529 - 925	Origen de replicación del plásmido RK2 para el mantenimiento del plásmido en <i>Agrobacterium</i>
Intrón	926 - 1462	Secuencia usada en donación de ADN
CS-rop	1663 - 1864	Secuencia codificante del represor del primer del plásmido ColE1 para el mantenimiento del número de copias en <i>E. coli</i>
Intrón	1855 - 2261	Secuencia usada en clonación de ADN
OR-ori- pBR322	3262 - 2870	Origen de replicación de pBR322 para el mantenimiento del plásmido en <i>E. coli</i> .
Intrón	2871 – 3400	Secuencia usada en donación de ADN

aadA	3101 - 4289	Gen para una enzima aminoglucósido modificada (3'(9)-O-nucleotidil transferasa) del transposon Tn7
Intrón	4290 - 4384	Secuencia usada en clonación de ADN
T-DNA II (No presente en MON87708)		
Borde Izquierdo	4385 - 4795	ADN de <i>A. tumefaciens</i> con la secuencia del borde izquierdo usada para la transferencia del T-DNA
Intrón	4796 - 4809	Secuencia usada en condón de ADN
T-E9	4810 - 5452	Región 3' no traducida del gen RbcS2 de <i>P. sativum</i> para dirigir la poliadenilación.
Intrón	5453 - 5459	Secuencia usada en condón de ADN
CS-cp4 epsps	5459 - 6826	Secuencia modificada que codifica para la proteína C4 EPSPS de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> cepa CP4.
TS-CPT2	6827 - 7054	Secuencia que codifica para el péptido de tránsito del gen ShkG de <i>Arabidopsis thaliana</i> que dirige la proteína CP4 EPSPS al cloroplasto.
Intrón	7055 - 7063	Secuencia usada en donación de ADN
L - DnaK	7064 - 7159	Secuencia líder 5' no traducida del gen hsp70 de <i>Petunia Hybrida</i>
Intrón	7160 - 7162	Secuencia usada en donación de ADN
P- FMV	7163 - 7714	Promotor para el RNA 35S del figwort mosaic virus
Intrón	7715 - 7761	Secuencia usada en donación de ADN
Borde Derecho	7762 - 8118	ADN de <i>A. tumefaciens</i> con la secuencia del borde derecho usada para la transferencia de T-DNA
Intrón	8119 - 8289	Secuencia usada en clonación de ADN

Evento MON89788

Elemento	Posición	Función
T-DNA		
Borde Derecho	9269 - 9645	ADN de <i>A. tumefaciens</i> con la secuencia del borde derecho usada para la transferencia de T-DNA
Intrón	5646 - 51	Secuencia usada en donación de ADN
P-TMV/Tsf1	52 - 1091	Promotor quimérico formado a partir del promotor del gen Tsf1 de <i>Arabidopsis thaliana</i> y las secuencias tipo enhancer del virus del mosaico de las escrofulariáceas.
L-Tsf1	1092-1137	Secuencia líder 5' no traducida del gen Tsf1 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
I-Tsf1	1138 - 1759	Secuencia intrónica del gen Tsf1 de <i>Arabidopsis thaliana</i>
Intrón	1760 - 1768	Secuencia usada en donación de ADN
TS-CPT2	1769 - 1996	Secuencia que codifica para el péptido de tránsito del gen ShkG de <i>Arabidopsis thaliana</i> que dirige la proteína CP4 EPSPS al cloroplasto.
CS-cp4 epsps	1997 - 3364	Secuencia modificada que codifica para la proteína C4 EPSPS de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> cepa CP4.
Intrón	3365 - 3406	Secuencia usada en donación de ADN
T-E9	3407 - 4049	Señal de poliadenilación derivada de la región 3' no traducida del gen RbcS2 de <i>Pisum sativum</i>
Intrón	4050 - 4092	Secuencia usada en clonación de ADN
Borde Izquierdo	4093 - 4534	Región DNA de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> con la secuencia del borde izquierdo para la transferencia del T-DNA.
Esqueleto del vector		

Intrón	4535 – 4620	Secuencia usada en donación de ADN
OR-ori V	4621 – 5017	Origen de replicación del plásmido RK2 para el mantenimiento del plásmido en Agrobacterium
Intrón	5018 – 6525	Secuencia usada en clonación de ADN
CS-rop	6526 – 6717	Secuencia codificante del represor del primer del plásmido ColEt para el mantenimiento del número de copias en E. coli
Intrón	6718 – 7134	Secuencia usada en clonación de ADN
OR-ori-Pbr322	7135 – 7763	Origen de replicación de pBR322 para el mantenimiento del plásmido en E. coli.
Intrón	7764 - 8263	Secuencia usada en donación de ADN
aadA	8264 – 9152	Gen para una enzima aminoglucósido modificada (3'(9-0-nucleotidil transferasa) del transposon Tn7
Intrón	9153 - 9288	Secuencia usada en clonación de ADN

A5545-127

Posición en Vector	Elemento Genético	Función
0001-0188	Secuencia del Vector pUC19 (Yanisch-Perron et al., 1985)	Estructura del Vector
0189-0243	RB: Borde Derecho fragmento del plásmido octopina TiAch5 (Gielen et al., 1984)	Elemento actuando en Cis para la transferencia de ADN-T
0244-0460	Secuencia del Vector pUC19 (Yanisch-Perron et al., 1985)	Estructura del Vector
0461-1003	P35S: promotor del virus en Mosaico de la Coliflor del vector PDH51 (Pietrzak et al., 1986)	Promotor de la transcripción (constitutiva fuerte)
1004-1011	Secuencias sintéticas derivadas de sitio de múltiple clonado	Sitio de clonado del plásmido
1012-1563	pat: gen pat sintético (secuencia de aminoácidos de Streptomyces viridochromogenes) (Strauch et al., 1993)	Tolerancia a Herbicida y marcador de selección
1564-1581	Secuencias sintéticas derivadas de sitio de múltiple clonado	Sitio de clonado del plásmido
1582-1784	T35S: terminador del virus en Mosaico de la Coliflor del vector PDH51 (Pietrzak et al., 1986)	Señal de stop
1785-4076	Secuencia del vector pUC19, incluyendo el sitio de múltiple clonado (pos. 185-1843), el ori (origen de replicación) en posición 2257 y el gen β -lactamasa (bla) (pos. 3876-3016) (Yanisch-Perron et al., 1985)	Origen de replicación bacteriana y marcador bacteriano

2. Diferencias del evento y Cultivar convencional:

En principio, el evento de soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 es sustancialmente equivalente a la soya convencional.

En términos generales, este evento de soya, no presenta diferencias biológicas significativas con respecto a las soyas convencionales. Los estudios de características agronómicas y nutricionales, muestran que no habría diferencias significativas entre el evento conjunto, los eventos individuales y los testigos convencionales.

La gran diferencia se basa en la expresión de tres proteínas transgénicas, que fueron introducidas por el cruce de los tres eventos transgénicos, las cuales son: Dicamba Mono Oxigenasa (DMO) CP4EPSPS y PAT, que le confieren tolerancia a la aplicación de los herbicidas dicamba, glifosato y glufosinato de amonio.

3. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto

Análisis moleculares indican que los transgenes de cada uno de los eventos individuales (MON87708, MON89788 y A5547-127), se ha integrado de forma estable en el genoma del evento MON87708 x MON89788 x A5547-127,

JUSTIFICACIÓN DE LA INTRODUCCIÓN DE SOYA MON87708 x MON89788 x A5547-127.

La soya sigue siendo la oleaginosa más importante del mundo, ya que es la principal fuente de aceite comestible y una de las mayores fuentes de proteínas (37-45%) para la alimentación humana y animal. Presenta buen contenido de aceite de alta digestibilidad en la semilla (20-22%), es rica en ácidos grasos poliinsaturados, en carbohidratos (34%), en aminoácidos esenciales y en minerales como el calcio (210mg) y el hierro (8.5 mg). Sus características nutricionales hacen que esta sea un buen complemento para los productos de consumo hechos a base de maíz y sorgo.

A pesar de estas bondades, el cultivo de la soya en Colombia presenta, en términos generales, baja competitividad debido a los altos costos de producción, bajos rendimientos varietales y factores socioeconómicos, generados por la globalización de la economía, lo cual ha generado una reducción de las áreas de siembra en el ámbito nacional, favoreciendo las importaciones de grano, aceite y concentrados, para suplir las necesidades de los productores del país.

En años recientes, la demanda nacional superó las 820.000 ton/año, de las cuales el país alcanzó a producir tan solo cerca del 8%, incrementado los volúmenes de importación tanto de grano como de productos elaborados (Valencia *et. al*, 2005).

Bajo este contexto, es evidente la necesidad que tiene el país de importar los faltantes para rellenar el déficit de la demanda de soya. A nivel mundial, EEUU, Brasil, Argentina y China son los principales países productores de soya, con el 83% del área cultivada y el 91% de las exportaciones al mundo. En la subregión andina, Bolivia es el mayor productor, ocupando el octavo puesto en el mundo. La producción en América del Sur en el 2003 alcanzó las 92.753.000 toneladas, sobresaliendo Brasil con 51.547.300, Argentina con 34.800.000, Paraguay con 4.400.000 y Bolivia con 1.650.000.

En la actualidad los países con grandes producciones de soya vienen implementando la adopción de nuevas tecnologías de producción, como es el caso de los cultivos transgénicos. En este sentido y teniendo en cuenta que el país necesita importar soya para suplir la demanda interna, es necesario adoptar medidas para tener una política clara y transparente para la adopción de estos nuevos materiales en el mercado nacional, sobre todo a nivel de bioseguridad, para que el país cuente con más opciones de materia prima para la elaboración de alimentos concentrados para animales, con altos contenidos de proteínas.

II. EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS POTENCIALES

La evaluación de los riesgos potenciales se hará teniendo en cuenta la siguiente Matriz¹:

		ESTIMACION DEL RIESGO'		
Probabilidad	Muy Probable	Moderado	Alto	Muy Alto
	Probable	Bajo	Moderado	Alto
	Poco Probable	Insignificante	Bajo	Moderado
		Menores	Intermedias	Mayores
		Consecuencias		

A. POTENCIAL QUE LA SOYA MON87708 x MON89788 x A5547-127 SE CONVIERTA EN MALEZA O INVADA AMBIENTES NATURALES

Caracterización del riesgo

Una maleza se puede definir como una planta que crece donde no lo desea el ser humano (FAO, 2002) o que crecen en lugares donde no son deseadas y que por lo general tienen efectos económicos, ambientales y/o sociales detectables y negativos (Richardson *et al.*, 2000). De acuerdo a la primera definición, cualquier planta en algún momento puede considerarse como maleza. Sin embargo en este caso, para que la planta se considere maleza deberá causar algún daño en el cultivo o en el ecosistema.

Entonces desde el punto de vista agronómico, una “maleza” es un conjunto de plantas que se han adaptado a unas condiciones agroecológicas específicas y crecen de forma agresiva, junto a uno o varios cultivos, afectando su capacidad de producción y desarrollo normal por la competencia de agua, luz, nutrientes y espacio físico, y/o por la producción de sustancias nocivas para dichos cultivos. Desde este punto de vista, se puede deducir que el concepto de maleza es netamente antropológico.

Según FAO (2004), el daño causado por las malezas se da por diferentes problemas debido a:

- Su fuerte competencia con los cultivos por los nutrientes, el agua y la luz.
- La liberación de sustancias a través de sus raíces y sus hojas que resultan ser tóxicas a los cultivos, de tal manera que pueda competir con las plantas del cultivo.
- Creación de un hábitat favorable para la proliferación de otras plagas (artrópodos, ácaros, patógenos y otros) al servir de hospederas de éstas.
- Interfiriendo el proceso normal de cosecha y contaminando la producción obtenida.

¹ Un **riesgo insignificante** es considerado insustancial, cuando no hay necesidad de realizar acciones para su mitigación. Un **riesgo bajo** es considerado Mínimo, pero hay necesidad de tomar medidas de mitigación más allá de las prácticas normales. Un **riesgo moderado** se considera de notable preocupación y que se requieren medidas de mitigación que deben ser demostradas como eficaces. Un **riesgo alto** se considera inaceptable a menos que las medidas de mitigación son altamente viables y eficaces. Un **riesgo Muy alto** se considera inaceptable.

Las plantas de la soya son anuales y no sobreviven vegetativamente de un ciclo de siembra a otro (Hymowitz & Singh, 1987). La supervivencia de una estación a la siguiente es mediante semillas; no obstante rara vez se ha visto crecimiento espontaneo de la soya cultivada. Debido a que la soya no mantiene una alta tasa de germinación y vigor durante largos periodos, en cada estación de cultivo se necesitan semillas frescas, cultivadas y manejadas adecuadamente de las variedades comerciales (Tekrony, et al., 1987).

Basados en la información del solicitante, la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 no presenta ninguna ventaja competitiva, distinta a la tolerancia a la aplicación de los herbicidas dicamba, glifosato y glufosinato de amonio.

Probabilidad de ocurrencia

Con la información entregada por el solicitante, se ha demostrado que las características de crecimiento y reproducción, subsistencia, establecimiento y dispersión de la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 no han cambiado comparándola con su contraparte. Por esta razón, la probabilidad de que la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 sobreviva y persista en el ambiente como maleza, es muy poco probable.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia.

Un aumento en la competitividad y/o persistencia de la planta transformada, podría causar que la soya se convirtiera en maleza causando problemas agronómicos. Sin embargo, estos cambios no se han observado en *Glycine max* durante los largos periodos de adaptación y cultivo. Las consecuencias en caso de que la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 se convierta en malezas se considera son menores puesto que las plantas voluntarias de soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 son fáciles de identificar y controlar por medio de prácticas agronómicas y el uso de herbicidas diferentes a glufosinato de amonio, glifosato y dicamba.

Estimación del riesgo

Se puede concluir que la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 no exhibe tendencias de convertirse en maleza o que invada ambientes naturales o agrícolas, como lo es la soya convencional. Teniendo en cuenta la probabilidad de ocurrencia y las consecuencias, el riesgo se considera insignificante.

B. POTENCIAL DE LA SOYA MON87708 x MON89788 x A5547-127 PARA TRANSFERIR GENES A VARIEDADES CRIOLLAS O PLANTAS SEXUALMENTE COMPATIBLES

Caracterización del riesgo

La soya cultivada pertenece al subgénero Soja y es esencialmente compatible sólo con miembros de la especie *Glycine max*; el cruce de soya con miembros del subgénero *Glycine* solo es posible con ayuda técnica extrema. La soya no se cruza con ninguna planta emparentada de otros géneros (Hymowitz & Singh, 1987). Por lo tanto, los únicos lugares donde puede ocurrir polinización son en Australia y China donde las especies perennes ocurren endémicamente. La soya cultivada es esencialmente autogama (Carlson & Lersten, 1987; McGregor, 1976). La soya cultivada no es sexualmente compatible con ninguna otra especie de *Glycine* encontrada en los Estados Unidos o sus territorios, a excepción de colecciones especiales para investigación mantenidas bajo examen y cuidado científico. No existen reportes acerca de la presencia de especies silvestre de la soya (*Glycine max* L), en Colombia, aunque algunas especies perennes del subgénero *Glycine* han sido reportadas en el territorio de los Estados Unidos (Hermann, 1962; Hymowitz & Singh, 1987). Los resultados de estas cruces indican que las primeras generaciones de estos híbridos son estériles y la obtención de semilla se ha logrado con mucha dificultad.

Las anteras maduran en la yema floral y vierten su polen directamente hacia el estigma de la misma flor, asegurando un alto grado de autopolinización. La polinización cruzada generalmente es muy escasa y varios estudios han mostrado que está entre el 0.03% y el 3.62% (McGregor, 1976; Woodworth, 1992). A distancias de más de 4.5 m de la fuente del polen, la polinización natural cruzada en la soya es poco frecuente (menos del 0.02%) y a menudo indetectable (Caviness, 1966). Caviness (1970) demostró que las abejas son las responsables de la polinización cruzada ocasional y que los trips son polinizadores poco eficaces. Como resultado, las plantas de soya son generalmente consideradas como líneas homocigotas puras.

Probabilidad de ocurrencia

Para que se presente el flujo de genes de materiales cultivados a parientes silvestres vía cruzamiento se deben cumplir con ciertas condiciones:

1. El cultivo y su pariente silvestre deben presentar en proximidad espacial
2. Sus periodos de fecundidad deben coincidir
3. Se debe encontrar un vector idóneo para transportar el polen entre los dos materiales
4. Los materiales parentales deben ser sexualmente compatibles
5. El híbrido resultante del cruzamiento debe dar origen a una semilla viable
6. los híbridos deben ser fértiles y ecológicamente adaptados al ambiente

Teniendo en cuenta que la soya es una planta autogama con porcentajes de polinización cruzada entre el 0.03% y 3.62% y que no es sexualmente compatible con ninguna otra especie; la probabilidad de ocurrencia de que la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 transfiera genes a variedades convencionales es muy poco probable.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia

Una transferencia de genes a soyas convencionales, podría alterar su composición genética de una manera irreversible. Sin embargo, para que esto sea un problema, los genes deben establecerse en el cultivo de soya convencional y desarrollar la habilidad de competir con aquellas plantas que no poseen la característica. Una vez el gen(es) se ha introgresado en una nueva población, es casi imposible eliminarlo debido a la naturaleza impredecible y compleja del flujo de genes. Otra preocupación que surge de la introgresión de genes es que el proceso de evolución natural se ve alterado lo que puede desembocar, posiblemente, a una alteración de las características de persistencia de la planta (Hilbeck y Andow, 2004). Las consecuencias de este riesgo se consideran intermedias.

Estimación del riesgo

Se puede concluir que la estimación del riesgo de que haya transferencia de genes y que efectos adversos ocurran, es bajo

C. POTENCIAL DE LA SOYA MON87708 x MON89788 x A5547-127 SEA TOXICA PARA LOS ANIMALES.

Caracterización del riesgo

El gen dmo fue aislado de *Stenotrophomonas maltophilia*. La proteína Dicamba Monoxigenasa cataliza la desmetilación oxidativa NADH dependiente, del Dicamba (Ácido 3,6-dicloro-2- metoxibenzoico).

Estudios de bioinformática mostraron que no hay homología entre la proteína DMO y toxinas conocidas (Tu & Silvanovich, 2010a; Tu & Silvanovich, 2010b). Estudios de digestión in-vitro con fluidos gástrico e intestinal simulados muestran que la proteína DMO es rápidamente degradada (30 segundos en fluido gástrico y menos de 5 min en fluido intestinal) (Burge et al., 2010).

El gen cp4 epsps fue aislado de *Bacillus thuringiensis* cepa CP4, el cuál expresa una proteína homóloga a la enzima endógena vegetal EPSPS. El glifosato se une a la EPSPS e impide la unión de esta con el Fosfoenol piruvato (PEP), bloqueando la catálisis mediada por la EPSPS del Shikimato-3-fosfato (S3P) y PEP. La proteína CP4 EPSPS tiene una mayor afinidad por el PEP que por el glifosato, presentándose unión EPSPS-PEP aún en presencia de glifosato y la catálisis se da normalmente (CERA, 2010).

Estudios de digestión in-vitro con fluidos gástrico e intestinal simulados muestran que la proteína CP4 EPSPS es rápidamente degradada (15 segundos en fluido gástrico y menos de 10 min en fluido intestinal), de igual manera, pruebas de toxicidad aguda realizadas en ratones administrando la proteína vía oral a dosis de 572 mg/kg, no muestran efectos adversos significativos (Harrison et al., 1996).

Estudios en roedores, gallinas, peces y vacas lecheras que fueron alimentados con soya que expresa la proteína CP4 EPSPS no mostraron efectos tóxicos significativos, así como

tampoco disminución en producción y calidad de leche, características de canal y rendimiento en todas las especies evaluadas (Hammond et al., 1996). En cerdos alimentados con soya con el gen cp4 epsps, no se observaron efectos tóxicos ni nutricionales significativos (Cromwell et al., 2002). Vacas lecheras alimentadas con maíz que expresa la proteína CP4 EPSPS, no presentaron diferencias significativas en producción y rendimiento (Ipharraguerre et al., 2003). Aves de engorde alimentadas con maíz que expresa la proteína CP4 EPSPS, no presentaron deficiencias nutricionales así como tampoco diferencias significativas en el crecimiento y características de la canal, en comparación con aves alimentadas con maíz convencional (Taylor et al., 2003; Taylor et al., 2005).

El gen pat codifica la enzima fosfinotricin-N-acetil transferasa. Las acetil transferasas son una clase de enzimas comunes tanto en células bacteria les como de plantas y animales. La acetil transferasa juega un papel central en el metabolismo de las grasas. Como virtualmente todas las células contienen acetil transferasas, son un componente natural de la dieta humana. No hay reportes de toxicidad o alergenidad asociada con acetil transferasas en la literatura. Estas enzimas no se parecen en su secuencia a toxinas proteicas conocidas como los venenos de serpientes, endotoxinas bacterianas o alérgenos. Además, la proteína PAT es rápidamente inactivada y digerida cuando es sometida a pH ácido. Estas condiciones se asemejan a las del sistema digestivo de mamíferos, lo que confirma que no son tóxicas en ratones.

Probabilidad de ocurrencia

La probabilidad que un efecto adverso ocurra después de la exposición de las proteínas expresadas en la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 es **poco probable**.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia

De acuerdo a la documentación entregada, los estudios realizados por el solicitante y la información consultada, la presencia de las proteínas DMO, CP4 EPSPS y PAT en la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 no implica riesgos toxicológicos para la salud animal. Se considera que las consecuencias son menores.

Estimación del riesgo

Se puede concluir que la Soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 posee un riesgo bajo en cuanto a toxicidad con respecto a su contraparte convencional

D. POTENCIAL QUE LAS PROTEÍNAS INTRODUCIDAS EN EL EVENTO DE SOYA MON87708 x MON89788 x A5547-127 PUEDAN SER ALERGÉNICAS Y/O TÓXICAS.

Caracterización del riesgo

Las Alergias alimentarias son reacciones adversas a un alimento o a un componente de un alimento, por lo demás inocuo, que causan o pueden promover diferentes tipos de reacciones inmunológicas (Sampson y Burks, 1996), como respuesta a la presencia del alimento o de la proteína.

Las alergias alimentarias representan una fracción pequeña del total de las que se presentan y generalmente involucran anticuerpos de la inmunoglobulina E (IgE). En el caso que la alergia se dé por mediación de la IgE, generalmente son reacciones de hipersensibilidad inmediata y afectan más comúnmente a los lactantes y niños, alcanzando una prevalencia en menores de 3 años hasta del 5-8 por ciento (Sampson, 1990).

Para la medición del potencial alergénico de todo material transgénico, se evalúan algunas características que se presentan frecuentemente en proteínas alergénicas a través del método del árbol de decisiones (Ladics and Selgrade, 2009; Metcalfe *et al.*, 1996), que en general incluye:

- La alergenidad de la fuente de la proteína. Si la proteína proviene un organismo no alergénico, lo más probable es que la proteína tampoco lo sea.
- La proporción de la proteína en el contenido total de proteínas. Una de las características más destacadas de las proteínas alergénicas conocidas, es que tienen una alta proporción en el total de proteínas del tejido o del organismo evaluado.
- Similitud estructural con alérgenos conocidos, basados en la secuencia de aminoácidos. Se ha encontrado una alta relación entre las estructuras de las proteínas y la función que desempeñan.
- Estabilidad de la proteína en ensayos de digestión. Un parámetro clave que contribuye a la capacidad alergénica sistemática de ciertas proteínas presentes en los alimentos parece ser la estabilidad a las condiciones pépticas y ácidas del sistema digestivo (Thomas *et al.*, 2009; Kimber *et al.*, 1999; Metcalfe *et al.*, 1996; Astwood *et al.*, 1996; Astwood and Fuchs, 1996). Sin embargo, la evidencia de la velocidad de la digestibilidad de las proteínas no necesariamente indica que la proteína es alergénica.

Las alergias alimentarias son causadas por una gran variedad de alimentos. La soya es un alimento que ha sido utilizado desde tiempos inmemoriales, sin embargo es conocido que sus granos crudos y algunos de sus productos poseen algunos elementos antinutricionales (inhibidores de proteasas, lectinas, fitoestrógenos, entre otros) y algunos alérgenos.

La evaluación bioinformática de la CP4 EPSPS se ha realizado varias veces a lo largo del proceso de investigación y desarrollo, concluyéndose en todos los informes que la

proteína CP4 EPSPS no presenta similitud a alérgenos y toxinas conocidas (Silvanovich, 2009), u otras proteínas biológicamente activas (Kang y Silvanovich, 2012; Tu y Silvanovich, 2011; Tu y Silvanovich, 2009) que pudieran afectar de manera adversa la salud humana o animal. Este resultado ha sido demostrado por medio del análisis de la base de datos AD_2014, TOX_2014 y la base de datos PRT_2014 (Kang y Silvanovich, 2014).

Con base en su estructura y su función, la proteína DMO está clasificada como una oxigenasa. Las oxigenasas son enzimas que incorporan un o dos átomos de oxígeno en sus sustratos y están ampliamente distribuidas en muchas rutas metabólicas universales (Harayama et al., 1992). Dentro de esta inmensa clase de enzimas están las mono-oxigenasas, que incorporan un solo átomo de oxígeno como un grupo hidroxilo con la producción concomitante de agua y oxidación de NADH (Harayama et al., 1992). Las mono-oxigenasas hierro no hemo, donde el hierro está involucrado en el sitio catalítico son una clase importante de oxigenasas. Dentro de esta clase están las oxigenasas Rieske con hierro tipo no hemo que contienen grupo Rieske hierro azufre [2Fe-2S]. Todas las oxigenasas Rieske hierro no hemo contienen dos dominios catalíticos, un dominio hierro no hemo (nh-Fe) que es un sitio de activación de oxígeno, y un dominio Rieske [2Fe-2S] que funciona transportando electrones desde la ferredoxina al dominio hierro no hemo (Ferraro et al., 2005). Una búsqueda de alineación FASTA de las bases de datos públicas utilizando la secuencia de la proteína DMO como consulta produjo secuencias homólogas provenientes de muchas especies diferentes, especialmente de bacterias, con identidad de secuencia de aminoácidos que varían hasta aproximadamente un 41%. La Clorofila A Oxigenasa (Número de Acceso: ACG42449) es una Oxigenasa tipo Rieske que se requiere para la formación de la clorofila b, que está presente en todas las plantas (Tanaka et al., 1998). La feoforbida A Oxigenasa (Número de Acceso: ABD60316) también es una Oxigenasa tipo Rieske que juega un papel en la regulación general de la degradación de la clorofila en plantas (Rodoni et al., 1997). La feoforbida A oxigenasa es un constituyente presente en todos los tejidos verdes y, a niveles ligeramente más bajos, en los tejidos etiolados y no fotosintéticos incluyendo las semillas (Yang et al., 2004). La proteína DMO de MON87708-9 pertenece a esta clase de oxigenasas que se encuentran presentes en varias especies que van desde las bacterias hasta las plantas que consumen los humanos y los animales (Ferraro et al., 2005; Schmidt y Shaw, 2001).

La secuencia de aminoácidos y regiones de alta homología entre dos o más proteínas pueden proporcionar información importante acerca de la actividad biológica de una proteína. Es decir, la secuencia de aminoácidos puede brindar información sobre las propiedades estructurales, hidrofóbicas e hidrofílicas, inmunogenicidad, estabilidad y la posible función de la proteína identificada. El uso de bases de datos ha mostrado ser una excelente herramienta para predecir la función biológica de proteínas desconocidas (Thomas et al., 2005). La secuencia de la proteína CP4 EPSPS ha sido comparada con las secuencias péptidas identificadas como "alérgenos" y "toxinas" de todas las bases de datos de proteínas disponibles para identificar si existía alguna homología. Los resultados muestran que existe homología de secuencia significativa entre alérgenos y toxinas conocidas con la secuencia de la proteína CP4 EPSPS. Adicionalmente, con base en los estudios de toxicología aguda en ratones, Smedley (2015) concluyó que la proteína CP4 EPSPS no es tóxica, ya que no se encontró evidencia de efectos tóxicos en los animales de prueba cuando se les administró una dosis de 2000 mg / kg de proteína CP4 EPSPS. Estas conclusiones de las evaluaciones de seguridad para las proteínas individuales no

cambian cuando se considera su expresión combinada en MON-87705-6 y MON-89788-1. Particularmente, no existe un mecanismo concebible que permita esperar que las características combinadas de tolerancia al glifosato en MON-87705-6 y MON-89788-1 en la misma planta puedan alterar las conclusiones de la evaluación de seguridad hechas para las proteínas individuales (Smedley, 2015).

Los dominios Rieske están presentes en muchas proteínas provenientes de bacterias y de plantas tales como la proteína hierro-azufre del complejo citocromo bc1, del complejo cloroplasto citocromo b6-fen la espinaca, y la colina rnonooxigenasa (Breyton, 2000; Darrouzet et al., 2004; Gray et al., 2004; Hibino et al., 2002; Rathinasabapathi et al., 1997; Russell et al 1998). La presencia de dos dominios conservados, un dominio Rieske [2Fe-2S] y un dominio hierro no hemo, sugiere que todas las oxigenasas hierro no hemo tipo Rieske comparten el mismo mecanismo de reacción, por el cual el dominio Rieske transfiere electrones desde la ferredoxina al hierro no hemo para permitir la clilnis (Chakraborty et al., 2005; Dumitru el al., 2009; Ferrara et al., 2005). La conservación de estos dominios estructuralmente importantes requeridos para la actividad enzimática es una evidencia más de la relación evolutiva entre todas las oxigenasas hierro no hemo tipo Rieske (Nam et al.; 2001; Rosche et al., 1997; Werlen et al., 1996). Por lo tanto las enzimas con homología estructural y similitud funcional con DMO se han descrito en plantas y bacteria y han sido ampliamente consumidas tanto por humanos como por animales.

La proteína DMO tiene una historia de uso seguro debido a que comparte homología estructural con una amplia variedad de oxigenasas presentes en bacterias y plantas presentes en el medioambiente y ampliamente consumidas por humanos y animales sin que exista ningún reporte de efectos adversos dentro de esta clase de proteínas.

Para evaluar el potencial alergénico de la proteína fosfinotricina-N-acetil transferasa (PAT), se llevó a cabo una búsqueda en bases de datos y el resultado demostró que las "acetil-transferasas" como grupo no presentan alergenicidad reportada para mamíferos. La proteína PAT es lábil al calor, lábil al medio ácido y altamente digerible. No se pudo establecer la generación de fragmentos de bajo peso molecular (peso molecular <6.000) durante los ensayos de digestibilidad in vitro. Sin embargo, estos posibles fragmentos se encuentran por fuera del rango de peso molecular de la mayoría de los alérgenos alimentarios. Una respuesta alergénica requiere una unión entre el alérgeno y las moléculas de anticuerpos IgE de la superficie de las células mastocito o basófilos. Las proteínas pequeñas suelen ser menos inmunogénicas y el peso molecular de 10.000 probablemente representa el límite inferior necesario para estimular una respuesta inmunogénica. Estos datos sugieren que la proteína PAT será digerida como proteína dietario convencional en el ambiente gástrico común de mamíferos y no debería presentar ningún riesgo dietario para los humanos.

El Consensus Document of General Information Concerning the Genes and Their Enzymes that Confer Tolerance to Phosphinothricin Herbicide de la OECD (OECD, 1999) establece que: "la proteína PAT no es un alérgeno conocido". Esta declaración está basada en la caracterización de la proteína, como así también en la búsqueda de homología en bases de datos (base de datos de ADN del GenBank, FASTADB, entre otros).

Probabilidad de Ocurrencia

De acuerdo a los estudios realizados, es *poco probable* que la presencia de las proteínas DMO, CP4 EPSPS y PAT en la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127, tengan algún efecto tóxico o alergénico.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia

En caso de que las proteínas presentes en el evento de soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 tengan alguna actividad alergénica podría causar trastornos en la salud humana y/o de los animales que podrían afectar su desarrollo normal y solo en casos severos, la muerte. En este sentido la consecuencia se califica como *intermedia*

Estimación del riesgo

Se puede concluir que la soya MON87708 x MON89788 x A5547-127 posee un riesgo *insignificante* en cuanto a toxicidad y alergenicidad con respecto a su contraparte convencional.

E. IMPACTO EN LA NUTRICIÓN ANIMAL DE LA SOYA MON87708 x MON89788 x A5547-127

Caracterización del riesgo

La soya está compuesta de nutrientes como proteínas, y aminoácidos, grasa y ácidos grasos, carbohidratos, fibra, minerales y vitaminas. Los nutrientes en la semilla de soya pueden variar ampliamente dependiendo de las condiciones de cultivo y el fondo genético (Bellaloui, et al., 2011; Bermán, et al 2009; Lundry, et al, 2008; OECD 2012; Rotundo y Westgate 2009; Seguin, et al, 2010). Los niveles, promedio de proteína y grasa en la semilla son 40% peso seco y 20% peso seco (ps), respectivamente, con valores reportados en la colección de germoplasma de soya en la USDA que varían entre 34.1 y 56.8% peso seco para proteína y 8.3 a 27.9% ps para grasa (Wilson 2004). Además, la proteína y la grasa total, los principales componentes de la biomasa evaluados en la semilla de soya incluyen carbohidratos y fibra (FDA y FDN). El contenido de ceniza, que se incluye en este análisis, es una medida de la cantidad total de minerales presentes en la semilla; los minerales incluyen Calcio y fosforo. La soya es una fuente de vitamina K1 (filoquinona) biológicamente disponible con niveles que varían entre 0.49 y 0.909 µg/g ps reportados en la literatura publicada (Thompson et al. 2016), La Vitamina E (α-Tocoferol) es impórtame para mantener la estabilidad oxidativa del aceite de soya.

Proteína y Aminoácidos

De los 19 componentes (proteína y 18 aminoácidos) analizados en esta categoría, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el evento apilado y el control convencional para los 18 componentes (proteína, alanina, ácido aspártico, cistina/cisteína, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina) (Tabla I), Una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre el apilado y el control convencional fue observada para la arginina (Tabla 1),

Tabla 1. Resumen de proteínas y aminoácidos en la semilla de soya para MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 y el control convencional

Componente (% ps)	Apilado rango de la media	Control rango de la media (D.E.)	Control rango de valores	Media (D.E.)	Valor	% Relativo
Proteína (% ps)	39.27 (0.64) 36.95 – 40.99	39.88 (0.64) 37.26 – 42.52	5.26	-0.61 (0.23)	0.054	-1.52
Alanina (% ps)	1.74 (0.029) 1.64 – 1.96	1.74 (0.029) 1.61 – 1.87	0.26	-0.0083 (0.015)	0.615	-0.48
Arginina (% ps)	3.02 (0.064) 2.76 – 3.24	3.07 (0.064) 2.72 – 3.26	0.54	-0.052 (0.020)	0.020	-1.68
Ácido aspártico (% ps)	4.50 (0.077) 4.26 – 4.81	4.54 (0.077) 4.22 – 4.93	0.70	-0.044 (0.030)	0.220	-0.97
Cistina/cisteína (% ps)	0.61 (0.030) 0.48 – 0.72	0.60 (0.030) 0.49 – 0.69	0.21	0.0065 (0.010)	0.548	1.09
Ácido glutámico (% ps)	6.93 (0.15) 6.35 – 7.52	7.04 (0.15) 6.35 – 7.76	1.42	-0.11 (0.070)	0.187	-1.59
Glicina (% ps)	1.71 (0.023) 1.63 – 1.81	1.72 (0.023) 1.63 – 1.83	0.21	0.012 (0.0079)	0.125	-0.72
Histidina (% ps)	0.98 (0.015) 0.93 – 1.07	0.99 (0.015) 0.92 – 1.05	0.13	-0.014 (0.010)	0.264	-1.37
Isoleucina (% ps)	1.86 (0.035) 1.73 – 2.00	1.87 (0.035) 1.72 – 2.04	0.33	-0.0083 (0.014)	0.544	-0.44
Leucina (% ps)	2.99 (0.058) 2.79 – 3.24	3.01 (0.058) 2.77 – 3.26	0.49	-0.023 (0.015)	0.204	-0.77
Lisina (% ps)	2.55 (0.047) 2.13 – 2.78	2.59 (0.047) 2.31 – 2.75	0.43	-0.045 (0.037)	0.232	-1.73
Metionina (% ps)	0.56 (0.017) .48 – 0.61	0.56 (0.017) 0.46 – 0.65	0.19	-0.0045 (0.011)	0.702	-0.79
Fenilalanina (% ps)	1.99 (0.040) 1.84 – 2.15	2.01 (0.0410) 1.84 -2.16	0.33	-0.020 (0.020)	0.375	-0.98
Prolina (% ps)	2.03 (0.035) 1.89 – 2.17	2.05 (0.035) 1.94 - 2.24	0.33	-0.026 (0.014)	0.134	-1.25
Cerina (% ps)	1.96 (0.038) 1.81 – 2.17	1.98 (0.038) 1.79 – 2.16	0.37	-0.023 (0.020)	0.317	-1.15
Treonina (% ps)	1.57 (0.024) 1.49 – 1.69	1.58 (0.024) 1.46 – 1.68	0.22	-0.13 (0.011)	0.322	-0.81
Triptófano (% ps)	0.57 (0.011) 0.53 – 0.63	0.57 (0.011) 0.53 – 0.60	0.08	-0.0018 (0.0074)	0.822	-0.31
Tirosina (% ps)	1.55 (0.022) 1.48 – 1.67	1.5 (0.022) 1.46 - 1.66	0.19	-0.013 (0.0070)	0.140	-0.82
Valina (% ps)	1.86 (0.029) 1.75 – 1.99	1.88 (0.029) 1.73 – 1.99	0.26	-0.014 (0.011)	0.259	-0.75

Los datos demostraron que el apilado no fue una fuente importante de variación en los niveles de proteína y aminoácidos en soya y confirmaron la equivalencia composicional del apilado con el control convencional en los niveles de estos componentes.

Grasa Total y Ácidos Grasos

De los nueve componentes (grasa total y ocho ácidos grasos) analizados en esta categoría, no se observó diferencia estadísticamente significativa, ($p < 0.05$) entre el apilado y el control convencional para siete componentes (grasa total, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido Linolénico, ácido Araquídico y ácido Eicosenoico) (Tabla 2). Se observaron diferencias estadísticamente significativas para el ácido oleico y el ácido Behénico (Tabla 2).

Tabla 2. Resumen de Grasa total y Ácidos Grasos en la semilla de soya para MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 y el control convencional

Componente (% ps)	Apilado rango de la media	Control rango de la media (D.E.)	Control rango de valores	Media (D.E.)	Valor P
Grasa total (% ps)	18.56 (0.65) 16.72 – 21.20	19.37 (0.65) 16.40 – 22.93	6.53	-0.81 (0.33)	0.069
Ácidos grasos					
16:0 palmítico (% ps)	12.07 (0.14) 11.19 – 12.71	12.11 (0.14) 11.52 (12.48)	0.96	-0.040 (0.049)	0.421
18:0 Esteárico (% ps)	4.22 (0.14) 3.81 – 4.94	4.20 (0.14) 3.83 – 4.92	1.08	0.025 (0.081)	0.772
18:1 Oleico (% ps)	19.90 (0.65) 16.85 – 21.73	20.83 (0.65) 17.52 – 22.38	4.86	-0.93 (0.30)	0.038
18:2 Linoleico (% ps)	54.71 (0.76) 53.41 – 56.74	53.92 (0.76) 51.84 – 56.49	4.64	0.79 (0.29)	0.053
18:3 Linolénico (% ps)	8.32 (0.40) 7.09 – 9.77	8.13 (0.40) 6.88 – 9.49	2.62	0.19 (0.11)	0.176
20:0 Araquídico (% ps)	0.31 (0.010) 2.28 -0.36	0.32 (0.010) 0.28 – 0.36	0.08	-0.0051 (0.0055)	0.407
20:1 Eicosenoico (% ps)	0.19 (0.0067) 0.16 – 0.21	0.19 (0.0067) 0.17 – 0.21	0.05	-0.0018 (0.0027)	0.557
22:0 Behénico (% ps)	0.28 (0.0061) 0.25 – 0.30	0.31 (0.0061) 0.28 – 0.33	0.05	-0.026 (0.0033)	0.001

Los datos demostraron que el Apilado no contribuyó en gran medida a la variación en los niveles de ácidos grasos totales en la soya y confirman la equivalencia composicional del apilado con el control convencional en los niveles de estos componentes.

Carbohidratos por Cálculo y Fibra

De los tres componentes (carbohidratos por cálculo, FDA y FDN) analizados en esta categoría, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre el Apilado y el control convencional para los carbohidratos por cálculo (Tabla 3). Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el Apilado y el control convencional para la FDA y la FDN (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen de Carbohidratos por Calcio y Fibra en la semilla de soya para MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 y el control convencional

Componente (% ps)	Apilado rango de la media	Control rango de la media (D.E.)	Control rango de valores	Media (D.E.)	Valor P
Carbohidratos por cálculo (% ps)	36.79 (1.04) 32.63 -39.44	35.57 (1.04) 30.02 – 39.20	9.18	1.22 (0.63)	0.125
Fibra detergente acida (% ps)	16.20 (0.42) 11.69 – 19.19	13.44 (0.42) 11.30-16.32	5.02	2.75 (0.56)	0.007
Fibra detergente neutra (% ps)	17.37 (0.63) 10.40 – 21.27	14.70 (0.63) 11.17 – 18.13	6.96	2.67 (0.84)	0.015

Los datos demostraron que el apilado no contribuyó en gran medida a la variación en los niveles de ácidos grasos totales en la soya y confirman la equivalencia composicional del apilado con el control convencional en los niveles de estos componentes.

Ceniza y Minerales

De los tres componentes (ceniza, calcio y fosforo) analizados en esta categoría, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el apilado y el control convencional (Tabla 4)

Tabla 4. Resumen de Ceniza y Minerales en la semilla de soya para MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 y el control convencional

Componente (% ps)	Apilado rango de la media	Control rango de la media (D.E.)	Control rango de valores	Media (D.E.)	Valor P
Ceniza	5.18 (0.12) 4.51 – 5.49	5.19 (0.12) 4.58 – 5.59	1.01	-0.018 (0.065)	0.794
Calcio	0.29 (0.013) 0.23 – 0.34	0.29 (0.013) 0.24 – 0.34	0.10	0.00006 (0.0033)	0.987
Fósforo	0.55 (0.035) 0.41 -0.66	0.57 (0.035) 0.42 0.69	0.27	-0.018 (0.0099)	0.127

Estos datos demuestran que el apilado no contribuye en gran medida a la variación en los niveles de ceniza y minerales en la soya y confirman la equivalencia composición al del Apilado y el control convencional en los niveles de estos componentes.

Vitaminas

De los dos componentes (vitamina E y vitamina Ki) analizados en esta categoría, no se observó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre el apilado y el control convencional para la vitamina E. (Tabla 5). Se observó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre el apilado y el control convencional para la vitamina K1 (Tabla 5).

Los datos demuestran que el apilado no contribuyó en gran medida a la variación en los niveles de vitaminas en la soya y confirman la equivalencia composicional del Apilado y el control convencional en los niveles de estos componentes.

Tabla 5. Resumen de Vitaminas en la semilla de soya para MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 y el control convencional

Componente	Apilado rango de la media	Control rango de la media (D.E.)	Control rango de valores	Media (D.E.)	Valor P
Vitamina E (α -Tocoferol) (mg/100g ps)	2.89 (0.29) 2.12 – 4.22	2.76 (0.29) 2.03 – 3.81	1.78	0.14 (0.067)	0.108
Vitamina K1 (filoquinona) (μ g/g ps)	0.57 (0.076) 0.40 – 0.79	0.62 (0.076) 0.28 – 0.89	0.61	-0.058 (0.021)	0.048

Niveles de Antinutrientes e Isoflavonas

Los antinutrientes evaluados incluyeron Lectina, inhibidores de tripsina, ácido Fítico, Rafinosa y Estaquiosa. La Lectina y los inhibidores de tripsina de la soya son proteínas; la Lectina en la soya tiene propiedades de unión a carbohidratos, y los inhibidores de tripsina pueden inhibir la digestión de la proteína. El ácido Fítico se considera un antinutriente debido a sus propiedades quelantes de los minerales. Los oligosacáridos Estaquiosa y Rafinosa se consideran antinutrientes debido a la producción de gas y el efecto de flatulencia que causa su consumo (OECD, 2012). Los niveles de estos antinutrientes en la semilla de soya pueden variar significativamente debido a factores genéticos y ambientales (Breeze, *et al*, 2015; Horner, *et al*, 2008 Kumar, *et al*, 2010; Kumar, *et al*, 2003; OECD 2012; Pull, *et al*, 1978; Raboy y Dickinson 1993; Raboy, *et al*, 1984; Vollmann, *et al*, 2003).

También se evaluaron los niveles de isoflavonas en la semilla de soya. El contenido de isoflavonas en la semilla de soya varía considerablemente por factores tales como la variedad, los sitios donde se cultiva, y las fechas de siembra y cosecha (Eldridge y Kwolek 1983; Gutiérrez-González, *et al*, 2009; Hoeck, *et al*, 2000; Morrison. *et al*, 2008; OECD 2012).

Para los ocho componentes (Lectina, ácido Fítico, Rafinosa, Estaquiosa, inhibidor de tripsina, Daidzeína, Genisteína y Gliciteína) analizadas en esta categoría. No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el apilado y el control convencional (Tabla 6).

Los datos demostraron que el apilado no contribuyó en gran medida a la variación en los niveles de antinutrientes e isoflavonas en soya y confirmaron la equivalencia composicional del Apilado y el control convencional en los niveles de estos componentes.

Tabla 6. Resumen de Antinutrientes e Isoflavonas en la semilla de soya para MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 y el control convencional

Componente (% ps)	Apilado rango de la media	Control rango de la media (D.E.)	Control rango de valores	Media (D.E.)	Valor P
Antinutrientes					
Ácido Fítico	1.15 (0.13) 0.66 – 1.59	1.24 (0.13) 0.67 – 1.60	0.94	-0.093 (0.052)	0.146
Rafinosa	0.83 (0.098) 0.33 – 1.07	0.79 (0.098) 0.20 – 1.11	0.91	0.041 (0.047)	0.434
Lectina de Soya	4.03 (0.33) 2.83 – 5.48	3.87 (0.33) 2.74 – 5.38	2.65	0.16 (0.20)	0.476
Estaquiosa	3.88 (0.37) 1.88 – 4.42	3.76 (0.37) 1.86 – 4.45	2.62	0.12 (0.13)	0.401
Inhibidor de Tripsina	30.44 (5.18) 8.72 – 50.24	33.42 (5.18) 19.74 – 57.78	38.03	-2.98 (1.61)	0.073
Isoflavona (µg/g ps)					
Daidzeína (µg/g ps)	930.10 (74.63) 635.85 – 1281.36	1071.02 (74.63) 817.77 – 1353.84	536.07	-140.93 (54.56)	0.061
Genisteína (µg/g ps)	761.18 (49.96) 535.34 – 963.19	844.98 (49.96) 650.34 – 1091.01	440.67	-83.80 (32.47)	0.061
Gliciteína (µg/g ps)	150.07 (7.57) 129.86 – 199.78	154.08 (7.57) 100.18 – 180.82	80.35	-4.00 (10.70)	0.717

Niveles de Nutrientes en el Forraje

Las muestras de forraje fueron analizadas para proximales (proteína, grasa total, y ceniza), carbohidratos por cálculo y fibra (FDA y FDN). Para los seis componentes analizados en esta categoría no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el apilado y el control convencional (Tabla 7).

Tabla 7. Resumen de Proximales y Fibra en Forraje de MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 y el control convencional

Componente (% ps)	Apilado rango de la media	Control rango de la media (D.E.)	Control rango de valores	Media (D.E.)	Valor P
Ceniza (% ps)	6.78 (0.39) 5.37 – 7.88	6.82 (0.39) 5.47 – 8.58	3.12	-0.042 (0.16)	0.801
Carbohidratos por calculo (% ps)	66.3 (1.04) 61.18 – 70.41	66.47 (1.04) 61.31 – 70.26	8.95	-0.16 (0.42)	0.707
Proteína (% ps)	20.44 (0.61) 18.16 – 23.49	20.36 (0.61) 17.66 – 23.01	5.34	0.078 (0.30)	0.799
Grasa total (% ps)	6.44 (0.88) 3.19 – 9.25	6.35 (0.88) 3.24 – 9.17	5.93	0.099 (0.18)	0.597
Fibra detergente ácida (% ps)	30.89 (1.27) 22.88 – 39.24	31.18 (1.27) 25.29 – 38.87	13.58	-0.29 (1.78)	0.875
Fibra detergente Neutra (% ps)	35.94 (1.34) 28.03 – 43.97	36.40 (1.34) 28.60 – 42.52	13.92	-0.47 (1.20)	0.716

Los datos demostraron que el Apilado no contribuyó en gran medida a la variación en los niveles de proximales, carbohidratos por edículo y fibra en soya y confirmaron la equivalencia composición al del Apilado y el control convencional en los niveles de es tus componentes,

Conclusiones

Se realizó análisis composicional en la semilla y el forraje de soya MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 (el Apilado) y el control convencional cultivados en cinco sitios en los Estados Unidos durante la temporada de cultivo del 2015. De los 5U componentes evaluados estadísticamente. 44 no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el apilado y el control convencional. Un total de seis componentes (arginina, ácido oleico, ácido behénico. FDA, FDN y vitamina K1 en semilla) mostraron una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre el apilado y el control convencional Para estos componentes la diferencia media en los valores de los componentes entre el apilado y el control convencional fue menor que el rango de valores del control convencional. Los valores medios de los componentes en el apilado estuvieron dentro del rango de valores observado en la literatura y en ILSI-CCDB, Estos datos soportan la conclusión de que la soya MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 no contribuyó en gran medida a la variación en los niveles de los componentes en la semilla y en el forraje y confirma la equivalencia composicional de MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 con el control convencional en los niveles de estos componentes. Las diferencias estadísticamente significativas observadas no fueron composicionalmente significativas desde el punto de vista de la seguridad alimentaria.

Probabilidad de ocurrencia

De acuerdo a los estudios realizados por el solicitante, es poco probable que la soya MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 genere impactos negativos en la nutrición animal, ya que no se han observado cambios relevantes en su composición nutricional.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia

En caso que la soya MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 mostrará algún cambio en su composición nutricional, que genere algún impacto negativo en la nutrición animal, se podrían presentar cambios en el crecimiento animal, bajo rendimiento y desnutrición que podrían afectar la salud animal a largo plazo, si no se realizara una acción correctiva de suplemento nutricional. Se considera que las consecuencias son **menores**.

Estimación del riesgo

Se concluye que la soya MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional excepto por la característica nueva introducida, y que la probabilidad de que ocurra un riesgo nutricional por la expresión o la presencia de las proteínas transgénicas se considera insignificante.

A continuación se detallan en forma resumida los resultados del análisis de riesgo:

SOYA EVENTO MON 87708 x MON 89788 x A5547-127

¿Existe familiaridad basada en introducciones con historial de uso seguro?

SI. El evento conjunto y cada uno de sus parentales han sido aprobados para su uso en diferentes países.

¿Es la planta modificada genéticamente un producto de métodos genéticos clásicos?

Sí. El evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 fue obtenido cruzamiento convencional entre las variedades parentales, que si fueron modificadas genéticamente.

¿La planta modificada genéticamente, es fenotípicamente equivalente a un producto de un método clásico?

SI. Los estudios de características agronómicas y nutricionales mostraron que no había diferencias significativas entre el evento acumulado, con y sin aplicación de herbicida, con respecto a testigos convencionales. La gran diferencia se basa en la expresión de las proteínas transgénicas.

¿Pueden haber cruces con otras especies con variedades cultivadas del género *Glycine* presentes?

SI. La soya MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 puede llegar a cruzarse con variedades convencionales de soya, pero teniendo en cuenta que la soya es una planta autogama con porcentajes de polinización cruzada entre el 0.03% y 3.62% y que no es sexualmente compatible con ninguna otra especie; la probabilidad de ocurrencia de que la soya MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 transfiere genes a variedades convencionales es muy poco probable.

III. EFECTOS POTENCIALES EN EL AMBIENTE PREGUNTAS APROPIADAS PARA APLICACIONES ESPECÍFICAS PARA SER TOMADAS POR USUARIOS DE LA ESTRUCTURAPARA COMERCIALIZAR PLANTAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE

¿Hay cambios en la progenie obtenida por cruzamiento convencional?

No. No se producen cambios diferentes a los esperados de acuerdo con la herencia mendeliana.

¿Cuál es el modo de acción de las proteínas?

El gen dmo fue aislado de *Stenotrophomonas maltophilia*. La proteína Dicamba Monoxigenasa cataliza la desmetilación oxidativa NADH dependiente, del Dicamba (Ácido 3,6-dicloro-2- metoxibenzoico).

El gen cp4 epsps fue aislado de *Bacillus thuringiensis* cepa CP4, el cuál expresa una proteína homóloga a la enzima endógena vegetal EPSPS. El glifosato se une a la EPSPS e impide la unión de esta con el Fosfoenol piruvato (PEP), bloqueando la catálisis mediada por la EPSPS del Shikimato-3-fosfato (S3P) y PEP. La proteína CP4 EPSPS

tiene una mayor afinidad por el PEP que por el glifosato, presentándose unión EPSPS-PEP aún en presencia de glifosato y la catálisis se da normalmente (CERA, 2010).

El gen *pat*, que codifica para la enzima fosfinotricina acetiltransferasa (PAT), se deriva de la bacteria no patógena *Streptomyces viridochromogenes*. La enzima PAT inactiva a los herbicidas de la clase glufosinato de amonio, por introducción de un grupo acetilo en la molécula del herbicida, es decir, convierte la L-fosfinotricina, el principio activo de los herbicidas que contienen glufosinato de amonio, en una forma inactiva que no tiene ningún efecto herbicida en las plantas que lo expresan.

¿Tienen las proteínas mecanismos de acción igual o diferente?

Las proteínas contenidas en la soya MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 poseen rutas metabólicas diferentes.

¿En qué parte de la planta se acumulan las proteínas transgénicas?

Las proteínas contenidas en la soya MON 87708 x MON 89788 x A5547-127, se expresan en todos los tejidos de la planta, ya que tienen un promotor constitutivo.

¿Expresa la variedad de soya los niveles esperados de calidad nutricional y tolerancia a herbicidas?

Si, las plantas de soyas provenientes del evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 mayores contenidos de Ácido Oleico 18:1, menores niveles de ácidos grasos saturados (*palmitico* 16:0 y *esteárico* 18:0), tolerancia a los herbicidas dicamba y glifosato. .

¿Se esperan cambios en el consumo humano o animal?

No. El grano y el forraje provenientes del evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127, son nutricionalmente similares al grano y forraje de la soya convencional. Como se esperaba, no hay efectos no intencionales derivados de la expresión del evento conjunto.

IV. RECOMENDACION

Teniendo en cuenta:

- 1) Que la soya evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127, tiene muy pocas posibilidades de convertirse en supermaleza o en maleza persistente.
- 2) Que la soya evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 presenta tolerancia a los herbicidas dicamba, glifosato y glufosinato de amonio. .
- 3) Que soya evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 y los alimentos para consumo animal derivados de él son tan seguros y nutritivos como las variedades comerciales.
- 4) Que los eventos individuales del evento conjunto MON 87708 x MON 89788 x A5547-127, se encuentran autorizados en el país para siembras controladas y para consumo humano y animal.

5) Que la calidad nutricional de la soya evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 es equivalente a su contraparte no transgénica y a algunas variedades e híbridos comerciales.

6) Que la inocuidad de las proteínas expresadas ya ha sido evaluada en diferentes ensayos, sin que se haya evidenciado algún potencial tóxico o alergénico.

8) Que las proteínas transgénicas expresadas del evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 tienen muy pocas posibilidades de ser alergénicas y de causar efectos adversos en la salud humana y animal.

9) Que el evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 ya fue autorizado para consumo humano y animal en otros países, sin que se hayan detectado sucesos adversos ni para estos organismos, ni para el medio ambiente.

En virtud de lo anterior, se propone al CTNBio recomendar al ICA autorizar el uso del evento MON 87708 x MON 89788 x A5547-127 como alimento o como materia prima para la elaboración de alimentos de consumo animal.