

Papa Spunta TICAR[®]



TECNOPLANT
BIO-AGROTECNOLOGÍA



TECNOPLANT
BIO-AGROTECNOLOGÍA

PRESENTACIÓN

Tecnoplant S.A., es una empresa del Grupo Sidus que desde 1999 ha desarrollado, en convenio con el CONICET, un evento genéticamente modificado de papa resistente al virus PVY (Potato Virus Y) y que ha sido aprobado recientemente por el ex Ministerio de Agroindustria de la Nación para su comercialización.

El PVY (ver FIGURAS 1(a) y 3) por sí o en combinación con otro virus, puede producir pérdidas de rendimiento superiores al 40% (ver FIGURA 2). Por lo tanto, los productores de papa de nuestro país están obligados a reponer la semilla que origina los cultivos para consumo en forma anual, con el fin de evitar estos niveles de pérdida.

El cultivo de papa es susceptible a una amplia variedad de patógenos (virus, bacterias, hongos, etc.) que si bien no producen inconveniente alguno para los consumidores, sí lo hacen en términos de costos de producción y mantenimiento de los cultivos y su rendimiento consecuente para los productores. Es por esta razón que Tecnoplant S.A. desarrolló **Papa Spunta TICAR®**, como una solución al problema de infección viral con PVY y, adicionalmente, como un aporte a la disminución del uso de insecticidas en los campos de producción para el control de pulgones transmisores de la enfermedad.

La papa se multiplica en forma clonal a través de los tubérculos semilla, que son libres o poseen muy baja carga de patógenos. La presencia de plantas infectadas con PVY en los campos de producción de papa para consumo fresco y la incidencia de los pulgones en la transmisión del virus (ver FIGURA 1(b)), hacen que las papas plantadas en una campaña deban ser reemplazadas en un 100% en la siguiente. Es decir, el productor no puede guardar semilla de una campaña a otra si espera obtener buenos rendimientos. Esto obliga a la compra de semilla sana todos los años por parte de los productores.

Esta semilla sana debe producirse en zonas aisladas de los campos en los que se cultiva papa para consumo fresco (de forma de sortear la transmisión del virus por los áfidos), y además debe provenir de cultivos de alta sanidad. Estos cultivos de sanidad controlada se inician en laboratorios de producción in vitro a partir de plantas saneadas y desarrolladas desde meristemas. Estas plántulas se llevan luego a invernaderos con alto aislamiento para producir minitubérculos. Con éstos se inicia la multiplicación a campo en zonas aisladas, aumentando los volúmenes en sucesivos años de multiplicación en el campo. Este complejo sistema, que lleva aproximadamente 5 años de inversión, aumenta los costos de producción de la semilla y, como consecuencia, el precio de la misma.

Tecnoplant S.A., a través del desarrollo de **Papa Spunta TICAR®**, aporta una solución económica y ecológica a la producción de papa para consumo fresco en Argentina, con la potencialidad de llevar esta tecnología a otros países.

Virus de la papa

Las enfermedades causadas por virus afectan a la planta de papa en su conjunto. Se transmiten en forma vegetativa (por el uso de tubérculos semilla enfermos), mecánica (por contacto entre hojas, operarios o maquinarias) y, principalmente, por áfidos vectores (insectos que transmiten estos virus) (ver FIGURA 1(b)). No existen productos antivirales para el control de los virus vegetales. Los únicos medios de control son los manejos agrícolas, el uso de semillas libres de virus y el uso de insecticidas para eliminar los áfidos (vectores).

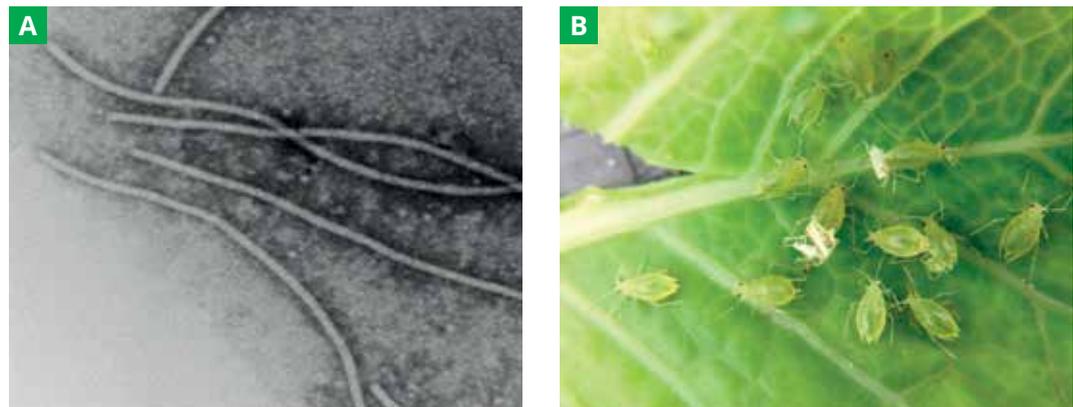


FIGURA 1: En la microscopía electrónica se observan las partículas del virus PVY (a) y a la derecha los áfidos vectores (b).



FIGURA 2: Síntomas de la infección por PVY en hojas (a) y tubérculos (b).



TECNOPLANT
BIO-AGROTECNOLOGÍA

Mejoramiento Genético

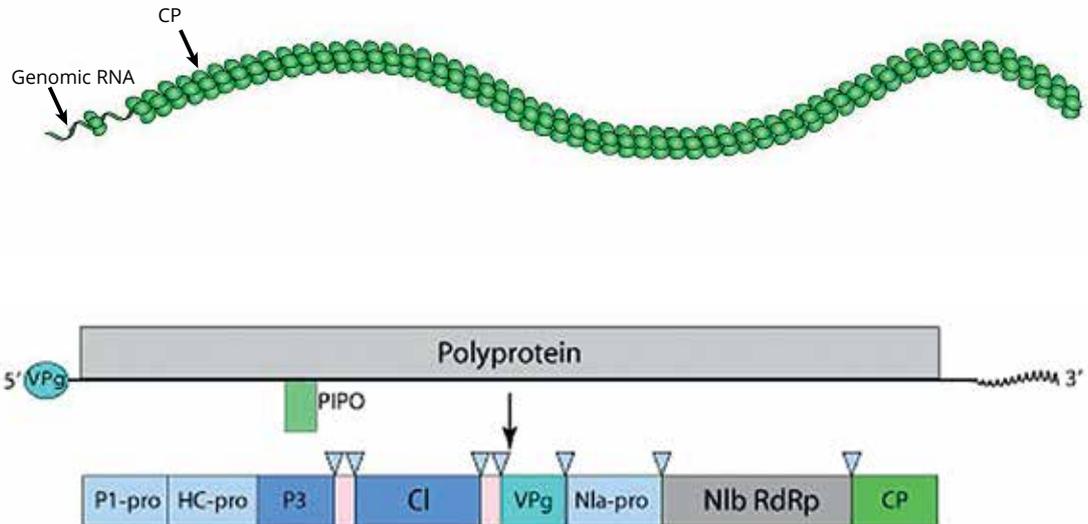


FIGURA 3: Estructura del Virus Y de la papa (PVY)

Una forma eficiente de introducir resistencia a virus es el mejoramiento genético convencional. Éste se basa en el cruzamiento entre individuos de la misma especie que muestran características diferentes, para luego seleccionar aquellos ejemplares que presentan las virtudes buscadas por el mejorador. En el caso de la papa, éste es un procedimiento lento y complicado, dadas las características genéticas de la especie. Además, la variedad Spunta (más del 90% de la producción para consumo fresco en Argentina) produce muy poca semilla botánica, lo que dificulta aún más los cruzamientos.

Resistencia a virus por ingeniería genética

Los enfoques biotecnológicos son los más eficaces para introducir resistencia a virus de plantas. Las tecnologías para ello existen desde 1986 y se han perfeccionado continuamente desde entonces. En la Argentina, la transformación genética de la papa está disponible desde 1989/90 en el INGEBI-CONICET (Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular).

En 1999 el CONICET firmó un acuerdo con Tecnoplant S.A. para el desarrollo de plantas de papa de la variedad Spunta resistente a PVY.

Mecanismo de resistencia

Las plantas disponen de una amplia gama de dispositivos de defensa contra patógenos vegetales, pero no poseen un sistema inmune como el de los animales, basado en anticuerpos.

En el caso de los virus de plantas, el mecanismo de defensa es altamente selectivo y se basa en reconocer la presencia del ADN o ARN del virus invasor y eliminarlo. Cada célula de la planta dispone de este mecanismo.

Cuando un virus ingresa a la planta se inicia una carrera entre el virus y éstos mecanismos de defensa. Dependiendo de quién gane esta carrera, se puede lograr un estado de elevada resistencia o inmunidad. Si la carrera la gana el patógeno, la planta se enfermará.

La tecnología aplicada en nuestro caso consiste en establecer permanentemente este mecanismo de defensa dirigiendo la resistencia en forma específica contra el virus PVY, un proceso similar a lo que produce una vacuna en el caso de humanos o animales, que activa y prepara al sistema inmune para la defensa contra un patógeno determinado.

El silenciamiento génico postranscripcional o PTGS (del inglés; *Post-Transcriptional Gene Silencing*), la modificación introducida por ingeniería genética en la **Papa Spunta TICAR®**, afecta sólo la regulación de un mecanismo defensivo propio de la planta y no introduce ninguna característica nueva en la misma, excepto la resistencia a este virus particular. Es un proceso que permite la degradación de un ARN específico, en este caso el ARN del virus PVY.

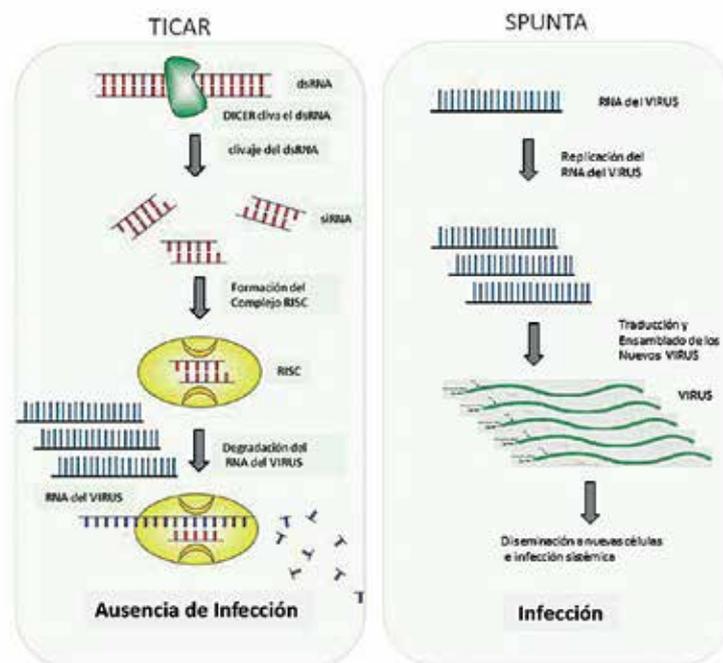


FIGURA 4: Funcionamiento del sistema de defensa contra virus de Spunta (derecha) vs. TICAR (izquierda)



TECNOPLANT
BIO-AGROTECNOLOGÍA

Silenciamiento postranscripcional, un mecanismo de defensa natural de las plantas contra los virus

Como se ve en la FIGURA 4 (izquierda), cuando el virus PVY infecta una **Papa Spunta TICAR®** se encuentra con el mecanismo de defensa ya establecido, dado que la planta produce RNA doble cadena (**dsRNA**) que tiene homología con la secuencia del virus y es cortado por la enzima **DICER** en pequeños fragmentos denominados **siRNA**. Estos siRNAs son la guía para que un complejo de degradación (**RISC**) elimine el RNA que tiene homología con estos siRNAs, es decir el virus PVY. En cambio, como se observa en la FIGURA 4 (derecha), cuando PVY infecta una planta de papa Spunta, el virus o su RNA puede entrar a una célula y multiplicarse para dar lugar a nuevos virus, en consecuencia, la planta se enfermará, ya que no pudo desencadenar a tiempo el mecanismo de defensa (PTGS).

Este mecanismo ha sido utilizado para lograr plantas de papaya resistentes al virus PRSV. Estas plantas son cultivadas y comercializadas desde el año 1998 en Hawaii, y también aprobadas en Canadá y Japón. China también produce y comercializa papayas resistentes al PRSV desde 2006. Más recientemente, el mismo mecanismo se ha utilizado para obtener manzanas y papas que no sufren pardeamiento, gracias al silenciamiento de la enzima polifenol oxidasa, eventos ya aprobados para su comercialización en Estados Unidos y Canadá. También en Brasil, el EMBRAPA, desarrolló plantas de porotos resistentes al virus BGMV, y obtuvo la aprobación para su comercialización.

Simplot Plant Sciences, la segunda industria de bastones pre-fritos congelados del mundo, utiliza la misma tecnología aplicada en **Papa Spunta TICAR®** y ha obtenido la aprobación para su papa marca "Innate" en algunos mercados extranjeros clave, incluyendo Japón, y tiene varias otras solicitudes de acceso al mercado extranjero pendientes. Simplot obtuvo la aprobación para vender su primera generación Russet Burbank en Japón durante el mes de agosto de 2017. La primera generación de Innate Burbanks, Atlantics y de Ranger Russets - todas cultivadas para resistir moretones, además de evitar oxidarse después del corte y de poseer bajos niveles de acrilamida, que es un producto químico potencialmente nocivo generado durante la fritura de algunos alimentos con almidón - se aprobó la primavera pasada en Australia y Nueva Zelanda. La compañía también ha solicitado la aprobación de la primera generación en China, Corea del Sur, Taiwán, Malasia, Singapur y México, y tiene previsto pronto aplicar en Filipinas. Simplot ya ha recibido la aprobación de la segunda generación de variedades Innate en Canadá y los EE.UU.

En EUA, Simplot recientemente agotó su inventario de papas frescas Innate, comercializada bajo la marca blanca Russet, por tercer año consecutivo. Innate se distribuyó en aproximadamente 4.000 supermercados en 40 estados. Los minoristas y los profesionales del servicio de alimentos se han mostrado dispuestos a pagar una prima por las papas Innate, porque evitan contusiones, incluso al final de la temporada cuando el problema está muy extendido.



TECNOPLANT
BIO-AGROTECNOLOGÍA

Desarrollo de Papa Spunta TICAR[®], ensayos de campo seguridad medioambiental y seguridad alimentaria

Una vez conseguidos en laboratorio, una gran cantidad de eventos potencialmente resistentes a PVY (más de 400), se clonaron in vitro en el laboratorio obteniendo microplántulas. Cada una de ellas era un clon con potencial resistencia a PVY. Las plántulas fueron aclimatadas y se realizaron ensayos de desafío con el virus en invernaderos (descartando 295 de esos clones) y luego en el campo (descartando otros 83), lo que permitió seleccionar los clones de mejor comportamiento frente a la enfermedad y se los llevó a nuevos ensayos en el campo para realizar estudios de rendimiento y comportamiento en condiciones de producción.

Estos estudios se realizaron bajo estrictos controles sobre todos los procesos por parte de la Dirección Nacional de Biotecnología Agrícola, dependiente del ex Ministerio de Agroindustria de la Nación, y muy especialmente el seguimiento y evaluación permanente de la CONABIA, la Comisión Nacional Asesora en Biotecnología Agrícola.

En colaboración, personal de INGEBI-CONICET y de Tecnoplant S.A. realizaron los ensayos de campo que permitieron seleccionar dos eventos promisorios, resistentes al virus y avanzar hacia la liberación comercial.

Sucesivas selecciones en invernadero y nueve ensayos de campo en cuatro localidades distintas del país durante 1998 y 2001 (ver FIGURA 5) fueron definiendo los clones más prometedores hasta llegar a TIC-AR 233-5, que fue el seleccionado para ingresar en la Fase II de CONABIA, en la que hubo que cumplimentar una serie muy importante de exigencias y reglamentaciones, demostrando la bioseguridad ambiental del evento.

El evento elegido resultó inmune a PVY en ensayos durante los cuales se infectaron el 85% de las plantas Spunta control. Todos los ensayos fueron autorizados y aproba-



FIGURA 5: Ensayo comparativo de rendimiento con dos de los eventos promisorios

dos por la CONABIA. La resistencia al virus fue confirmada en varias pruebas posteriores en las que se pudo constatar la ausencia de infección en las plantas **TICAR®**, mientras que las plantas Spunta control mostraron distintos grados de infección.

En paralelo, se realizaron los análisis de aptitud alimentaria de la variedad **Papa Spunta TICAR® 233-5**. Se analizaron diferentes características fenotípicas y bioquímicas que demostraron que la composición y el valor nutricional de la variedad **Papa Spunta TICAR® 233-5** son idénticos a los de la variedad Spunta original.



Para aumentar los niveles de seguridad ambiental de nuestro evento **Papa Spunta TICAR®**, se realizaron ensayos de flujo génico a campo, que permitieron comprobar la ausencia de transferencia horizontal hacia especies relacionadas y otras variedades de papa.

Toda esta información fue publicada en un artículo: Field testing, gene flow assessment and pre-commercial studies on transgenic Solanum tuberosum spp. tuberosum (cv. Spunta) selected for PVY resistance in Argentina – Bravo Almonacid, F., et al en la revista Transgenic Research.

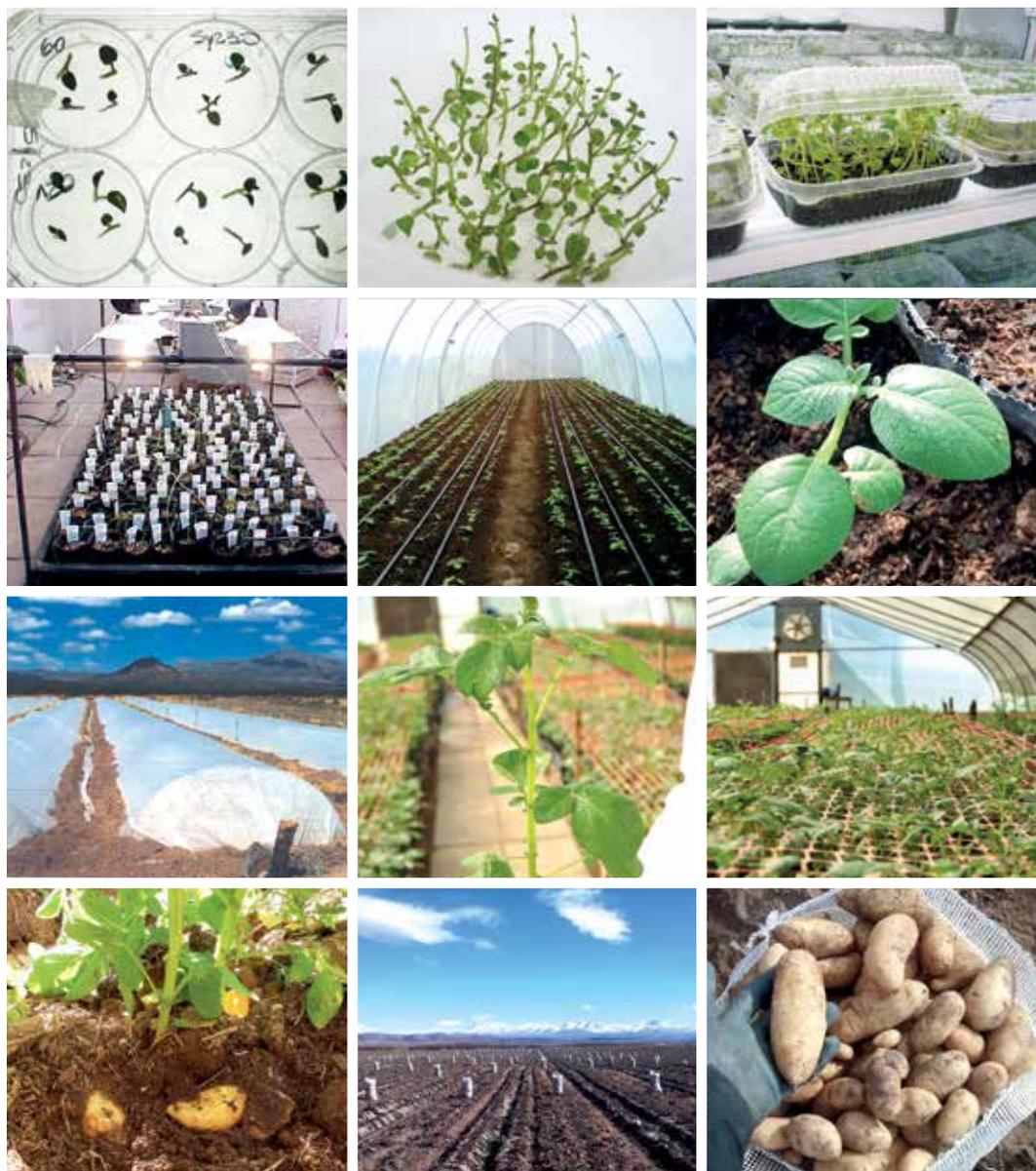
Adicionalmente, se secuenció todo el genoma de la variedad **Papa Spunta TICAR® 233-5**. Dicha secuencia genómica fue comparada con el genoma de referencia de la papa, lo que permitió corroborar la consistencia de las modificaciones efectuadas, verificar el lugar donde ocurrió la inserción y asegurar la no ocurrencia de otras modificaciones indeseadas.

Durante el año 2014 la Dirección de Mercados Agrícolas del ex Ministerio de Agroindustria de la Nación realizó un informe positivo de impacto de mercado. Asimismo, ante la llegada de un nuevo gobierno en 2017 se realizó una nueva evaluación de impacto en el mercado, llegando a idénticas conclusiones que las obtenidas en 2014.

Con fecha 29 de abril de 2015, la CONABIA aprueba el evento transgénico **Papa Spunta TICAR®**, culminando así con el cumplimiento de sus exigentes requerimientos.

El 6 de octubre de 2015 se publicó en el boletín Oficial de la República Argentina la Resolución 399/2015 del ex Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, aprobando la comercialización del evento transgénico **Papa Spunta TICAR®**, sujeta a la presentación de información adicional requerida por SENASA. Esta información fue cumplimentada y para julio de 2018 el SENASA dio por aprobadas sus exigentes solicitudes de información y análisis, que garantizan la inocuidad alimentaria del evento para su consumo.

El 8 de agosto de 2018, por Resolución 65/2018, el ex Ministerio de Agroindustria de la Nación libera para su comercialización el evento transgénico de papa resistente a PVY **Papa Spunta TICAR® 233-5**.



Impacto de la comercialización de Papa Spunta TICAR® en el país

- Disminución en los costos de producción de papa para consumo fresco en un porcentaje cercano al 10% por campaña.
- Valoración económica de esta mejora 40 a 45 M U\$/año.
- Mejoras en los rendimientos con mayor productividad para el productor.
- Mayor rentabilidad para el productor.
- Aumento de la competitividad de la cadena de valor.
- Ampliación de la frontera geográfica de la producción de papa semilla en Argentina.
- Menor uso de agroquímicos, especialmente insecticidas, con la consecuente reducción del impacto ambiental.
- Potencialidad de generar nuevos eventos apilados de interés para el cultivo de papa.
- Potencialidad de exportación de la tecnología.



TECNOPLANT
BIO-AGROTECNOLOGÍA

Brief de TECNOPLANT S.A.

- Somos una empresa de capitales enteramente argentinos.
- Somos una PYME integrante del Grupo Farmacéutico SIDUS.
- El desarrollo fue hecho en Argentina por científicos, productores y empresarios argentinos.
- Se viene trabajando desde 1999.
- Es un desarrollo público/privado entre Tecnoplant, INGEBI y CONICET.
- El proyecto ha sido financiado por el Grupo Farmacéutico SIDUS.
- Su implementación mejora la producción nacional.
- La tecnología es potencialmente exportable.
- Es un caso inédito que una empresa nacional de un país no central logre un evento transgénico vegetal con impacto en la cadena de valor.
- Modelo de recupero de la inversión realizada a través de regalías que respetan las necesidades del productor y se cobran sobre la semilla.



TECNOPLANT
BIO-AGROTECNOLOGÍA

Logros del GRUPO SIDUS en el sector de la biotecnología argentina

- 1° Producto farmacéutico recombinante producido en células (EPO)
- 1° Producto farmacéutico recombinante producido en bacterias (FILGASTRIM)
- 1° Clonación de vacas
- 1° Clonación de caballos
- 1° Vaca transgénica productora de HG
- 1° Vaca transgénica productora de HG Bovina
- 1° Vaca transgénica productora de Insulina
- 1° Evento transgénico animal desarrollado y aprobado en Argentina por una empresa nacional. (Vacas Dinastía Pampa, productora de HG)
- 1° Evento transgénico vegetal desarrollado y aprobado en Argentina por una empresa nacional (Papa Spunta TICAR®)
- 1° Producto farmacéutico nutracéutico mediante tecnología de liofilización (Blue King, comprimidos de arándanos)



Marie Orensanz, artista plástica argentina

“Llevar a la práctica innovaciones es difícil y constituye una función económica peculiar. Primero, porque está fuera de las tareas rutinarias que todo el mundo entiende; y en segundo lugar, porque el mundo exterior presenta a esto una resistencia multiforme. Para actuar con confianza, se requiere aptitudes que solamente se dan en una pequeña fracción de la población y caracterizan tanto al tipo como a la función del emprendedor. Ésta función no consiste esencialmente en inventar algo ni en crear de otro modo las condiciones que la empresa explota, consiste en lograr realizaciones”.

(Joseph Schumpeter, economista austro estadounidense)