



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca*

## **SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN**

**Maíz genéticamente modificado SYN-BTØ11-1xSYN-IR162-4xDAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØØ21-9 (OCDE), aquí denominado Bt11xMIR162xTC1507xGA21, que contiene la acumulación de los eventos Bt11, MIR162, TC1507 y GA21. Los mismos confieren resistencia a ciertos insectos Lepidópteros (Bt11, MIR162 y TC1507) y tolerancia a los herbicidas glifosato (GA21) y glufosinato de amonio (Bt11 y TC1507), presentado por la empresa Syngenta Agro S.A.**

Sobre la base del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico disponible, los suscriptos, representantes ante la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) acuerdan en dar por concluida la Segunda Fase de Evaluación del maíz genéticamente modificado (GM) Bt11xMIR162xTC1507xGA21. De esta evaluación se concluye que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación del mencionado maíz GM en el agroecosistema, en cultivo a gran escala, no son significativamente diferentes de los inherentes al cultivo de maíz no GM.

Este maíz GM fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales Bt11, MIR162, TC1507 y GA21 conteniendo cada uno de los eventos de transformación en forma separada. Los eventos TC1507 y GA21 obtuvieron aprobación comercial en Argentina en 2005, mientras que los eventos individuales Bt11 y MIR162 tienen autorización comercial en el país desde el año 2001 y 2011 respectivamente.

El maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21 ha sido ensayado a campo en Argentina en los años 2009 y 2012. Para tal fin fueron solicitados ante la SAGPyA y evaluados por la CONABIA 2 (dos) permisos para experimentación y/o liberación al medio agropecuario que han cumplido con la normativa vigente para los organismos vegetales genéticamente modificados (OVGM), los que contaron con las correspondientes autorizaciones.



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

El presente Documento de Decisión incluye al maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21, a los eventos acumulados intermedios, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de estos materiales con cualquier maíz no GM obtenido en forma convencional.

## **I. ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)**

**1. Nombres común y científico:** Maíz, *Zea mays* L.

**2. Denominación del evento:** Bt11xMIR162xTC1507xGA21

**3. Modificaciones introducidas:** Resistencia a insectos Lepidópteros plaga tales como el barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*), el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y la isoca de la espiga (*Heliothis zea* ó *Helicoverpa zea*) conferida por los genes *cry1Ab*, *vip3Aa20* y *cry1F* aportados por el evento Bt11, MIR162 y TC1507 respectivamente, y tolerancia a los herbicidas glifosato conferida por el gen *mepsps*, aportado por el evento GA21 y glufosinato de amonio conferida por el gen *pat* aportado por los eventos Bt11 y TC1507.

3.1. Secuencias introducidas en el evento Bt11:

El evento Bt11 fue obtenido por biobalística.

3.1.1. Genes principales: *cry1Ab* y *pat*

El gen *cry1Ab* codifica para la versión truncada de la proteína insecticida Cry1Ab proveniente de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* cepa HD-1, que confiere resistencia a insectos Lepidópteros plaga.



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca*

El gen *pat* proveniente de la bacteria *Streptomyces viridochromogenes* cepa Tu494, que codifica para la enzima fosfinotricina-acetil transferasa (proteína Pat), la cual confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio.

#### 3.1.2 Otros elementos:

Estos genes se encuentran formando parte de un solo inserto, el cual se comporta como un único locus. La expresión de cada uno de estos genes está controlada por sendos promotores derivados del promotor del transcripto 35S del Virus del Mosaico del Coliflor (CaMV). Una secuencia *nos*, que codifica para la nopalina sintasa de *Agrobacterium tumefaciens* es utilizada por cada uno de los genes como señal de terminación de la transcripción.

#### 3.1.3. Bordes

El inserto del maíz GM Bt11 posee una secuencia de 1.100 bases, del plásmido pUC19 utilizado en la transformación, incluyendo su origen de replicación pero que no incluye regiones codificantes.

### 3.2. Secuencias introducidas en el evento MIR162

El evento MIR162 fue obtenido por transformación con *A. tumefaciens*.

#### 3.2.1. Gen principal: *vip3Aa20*

El gen *vip3Aa20* codifica para una proteína denominada Vip3Aa20, la cual es una variante de la proteína insecticida Vip3Aa proveniente de *B. thuringiensis* cepa AB88, que confiere resistencia a insectos Lepidópteros plaga.

#### 3.2.2. Gen acompañante: *pmi*



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

El gen *pmi*, también llamado *manA*, codifica para la enzima fosfomanosa isomerasa proveniente de *Escherichia coli* cepa K-12 la cual cataliza la isomerización de manosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato y permite utilizar manosa como fuente de carbono alternativa, y fue utilizado como marcador de selección durante la transformación.

#### 3.2.3 Otros elementos:

El gen *vip3Aa20* se encuentra controlado por la secuencia promotora del gen de poliubiquitina de *Z. mays* el cual contiene el primer intrón (*ZmUbilnt*). En el extremo 3' del gen se encuentra el intrón 9 del gen de la fosfoenolpiruvato carboxilasa (*iPEPC9*), seguido de la secuencia terminadora del transcripto 35S de CaMV que provee la señal de poliadenilación.

El gen *pmi* se encuentra controlado por la secuencia promotora del gen de poliubiquitina de *Z. mays* el cual contiene el primer intrón (*ZmUbilnt*). La secuencia de terminación corresponde al gen *nos* de la nopalina sintasa de *A. tumefaciens* la cual provee la señal de poliadenilación.

#### 3.2.4. Bordes

El inserto del maíz GM MIR162 posee los bordes izquierdo y derecho de la región T del plásmido Ti de *A. tumefaciens* en los extremos correspondientes del inserto.

### 3.3. Secuencias introducidas en el evento TC1507:

El evento TC1507 fue obtenido por mediante transformación por biobalística

#### 3.3.1. Genes principales: *cry1F* y *pat*.



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

El gen *cry1F* truncado codifica para una variante sintética de proteína Cry1F derivada de *B.thuringiensis, subsp. aizawai* y confiere resistencia a ciertos insectos Lepidópteros plaga.

El gen *pat* derivado del gen que codifica para la proteína fosfinotricina-acetil transferasa (Pat) de *S.viridochromogenes* que confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio.

### 3.3.2 Otros elementos:

El promotor de ubiquitina, más la región 5' no traducida (intrón), de *Z. mays (ubiZM1(2))* regula la expresión del gen *cry1F*. El elemento de poliadenilación *ORF25 polyA* del plásmido pTi15955 de *A. tumefaciens* es utilizado como señal de terminación de la transcripción del gen *cry1F* y dirige la poliadenilación del ARN mensajero.

El promotor del transcripto 35S de CaMV regula la expresión del gen *pat*. La secuencia terminadora corresponde al transcripto 35S CaMV.

El inserto del maíz GM TC1507 posee además fragmentos de las secuencias gen *pat*, del gen *cry1F* y de la región terminadora *ORF25*, ninguno de los cuales se transcribe.

## 3.4. Secuencias introducidas en el evento GA21

El evento GA21 fue obtenido por biobalística.

### 3.4.1. Gen principal: *mepsps*

El gen aquí denominado *mepsps* que codifica para la enzima 5-enolpiruvil-3-fosfo-shiquimato sintasa (EPSPS) de maíz mutado para proveer la tolerancia a glifosato.

### 3.4.2. Otros elementos:



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca*  
*Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca*

Este gen mutado *mepsps* se encuentra controlado por la secuencia promotora del gen de actina 1 de arroz el cual contiene el primer exón e intrón del gen de la actina. En el extremo 5' del gen *mepsps* se encuentra el péptido señal optimizado (CTP) proveniente de la Ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCo) aislada de *Helianthus annuus* (girasol) que dirige la proteína al cloroplasto. En el extremo 3' del gen *mepsps* se encuentra la señal de terminación de transcripción y poliadenilación del ARN mensajero del gen *nos* de *A. tumefaciens*.

#### 3.4.3 Bordes

El inserto no posee ninguna otra secuencia adyacente a los sitios de inserción en el genoma del maíz diferentes a las indicadas anteriormente.

#### 3.5. Integridad de los insertos y número de copias del evento Bt11xMIR162xTC1507xGA21.

En cada uno de los eventos individuales, los genes y sus secuencias regulatorias se encuentran formando parte de un solo inserto, el cuál se comporta como un único locus cromosómico. Los insertos en cada evento individual se encuentran en una sola copia y su integridad ha sido verificada experimentalmente a través de sucesivas generaciones mediante análisis de *Southern blot*. No se observaron modificaciones de dichas características en el evento acumulado Bt11xMIR162xTC1507xGA21 respecto de los eventos individuales.

#### 3.6. Detección del evento Bt11xMIR162xTC1507xGA21.

La presencia de este evento puede ser determinada experimentalmente mediante técnicas moleculares de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para el presente



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca*  
*Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca*

evento, el método se basa en la detección de la presencia simultánea de cada uno de los cuatro eventos parentales a partir de ADN extraído de una única muestra biológica.

## **II. EVALUACIÓN DE RIESGO**

### **1. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación**

Comparado con el maíz convencional, el maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21 no posee mayor capacidad que sus homólogos convencionales de sobrevivir sin asistencia humana y/o adquirir características de maleza. La presencia de los genes cuya expresión determina el fenotipo de resistencia a insectos Lepidópteros plaga confiere una ventaja selectiva al maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21 en presencia de los insectos objetivo.

### **2. Potencial para la transferencia horizontal o intercambio de genes del OVGМ con otros organismos**

En el maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21, la producción de polen y su viabilidad no son diferentes a las del maíz no GM. No existen en el país otras especies sexualmente compatibles con maíz.

De la literatura científica disponible hasta el momento no surge la existencia de fenómenos de transferencia horizontal de genes desde el maíz hacia microorganismos, vectores virales o insectos. Por lo tanto se considera que no existen razones para suponer que esta característica haya cambiado en el maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21.

Las características del maíz comprendido en este documento, al igual que cualquier otro maíz no GM, determinan que es muy poco probable que, como



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca*

consecuencia de su consumo, puedan transferirse genes desde alimentos que contengan ácidos nucleicos derivados de este maíz, hacia microorganismos. Entre las razones para realizar esta afirmación pueden mencionarse: la acción degradadora de las enzimas digestivas sobre los ácidos nucleicos ingeridos con los alimentos y la ausencia, en los insertos, de elementos de conjugación, transposición u otras formas de movilización que favorezcan la transferencia de genes desde los materiales involucrados hacia microorganismos.

### 3. Productos de la expresión de los genes introducidos

Niveles de expresión de las proteínas: ~~codificadas por los genes introducidos:~~

En las siguientes tablas se describe las concentraciones medias y los rangos de las concentraciones medidas para cada proteína en el evento acumulado comparado con los eventos individuales. En las comparaciones se identificó una pequeña diferencia para algunos tejidos de la planta, sin embargo no se prevén efectos no deseados respecto a la bioseguridad del evento acumulado.

**Tabla 1: Concentraciones de la proteína Cry1Ab en tejidos del maíz Bt11 y Bt11xMIR162xTC1507xGA21**

Tejido	Estadio	Híbrido	Media	Rango	SD	P
Hojas	V10	Bt11	3.98	1.76–8.93	10.53	0.149
		Acumulado	15.87	3.25–41.50		
Hojas	R1	Bt11	5.89	2.70–15.00	6.17	0.053
		Acumulado	16.49	2.58–41.93		
Raíces	R1	Bt11	13.60	9.28–17.35	3.80	0.103
		Acumulado	18.66	13.07–29.83		
Granos	R6	Bt11	0.91	0.65–1.15	0.11	0.085
		Acumulado	1.07	0.91–1.24		
Planta	R1	Bt11	2.24	1.22–5.14	1.22	0.106
		Acumulado	3.84	1.51–10.28		

Las unidades son µg/g de peso seco. N=10. Acumulado: maíz Bt11xMIR162xTC1507xGA21. Se detectaron cantidades de la proteína en polen pero no pudieron ser cuantificadas por estar por debajo del límite de detección.



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

Fuente Syngenta Agro SA

**Tabla 2: Concentraciones de la proteína PMI en tejidos del maíz MIR162 y Bt11xMIR162xTC1507xGA21**

Tejido	Estadio	Híbrido	Media	Rango	SD	P
Hojas	V10	MIR162 <sup>a</sup>	4.25	3.55–5.42	0.69	0.346
		Acumulado	4.79	4.10–5.71		
Hojas	R1	MIR162	4.29	2.80–5.45	0.19	<b>0.017</b>
		Acumulado	3.81	2.41–5.95		
Raíces	R1	MIR162	2.54	1.62–3.21	0.34	0.641
		Acumulado	2.43	1.31–3.71		
Polen	R1	MIR162	3.31	3.00–3.71	0.41	0.183
		Acumulado	2.89	2.59–3.33		
Granos	R6	MIR162	1.29	1.05–1.56	0.07	0.322
		Acumulado	1.24	1.01–1.34		
Planta	R1	MIR162	2.19	1.80–2.66	0.09	<b>0.017</b>
		Acumulado	1.97	1.60–2.51		

Las unidades son µg/g de peso seco. N=10, a N=8. Acumulado: maíz Bt11xMIR162xTC1507xGA21. Los resultados que difieren estadísticamente con p < 0,05 se indican en negrita e itálica.

Fuente Syngenta Agro SA



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca*

**Tabla 3: Concentraciones de la proteína Vip3Aa20 en tejidos del maíz MIR162 y Bt11xMIR162xTC1507xGA21**

Tejido	Estadio	Híbrido	Media	Rango	SD	P
Hojas	V10	MIR162 <sup>a</sup>	59.38	43.61–69.14	9.01	0.105
		Acumulado	74.05	55.30–100.13		
Hojas	R1	MIR162	80.44	65.54–94.67	7.02	0.231
		Acumulado	74.17	50.50–110.12		
Raíces	R1	MIR162	33.39	25.41–39.89	2.5	0.119
		Acumulado	30.27	25.43–34.31		
Polen	R1	MIR162	47.95	41.51–59.91	6.17	0.156
		Acumulado	41.15	36.86–44.42		
Granos	R6	MIR162	29.02	25.92–32.64	1.37	0.566
		Acumulado	28.48	26.52–31.52		
Planta	R1	MIR162	30.00	25.40–33.92	1.61	<b>0.003</b>
		Acumulado	23.43	20.75–25.62		

Las unidades son µg/g de peso seco. N=10, a N=8. Acumulado: maíz Bt11xMIR162xTC1507xGA21. Los resultados que difieren estadísticamente con  $p < 0,05$  se indican en negrita e itálica.

Fuente Syngenta Agro SA

**Tabla 4: Concentraciones de la proteína Cry1F en tejidos del maíz TC1507 y Bt11xMIR162xTC1507xGA21**



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

Tejido	Estadio	Híbrido	Media	Rango	SD	P
Hojas	V10	TC1507	13.83	11.83–21.08	0.91	0.429
		Acumulado	13.32	11.06–15.11		
Hojas	R1	TC1507	17.17	15.13–19.55	4.11	0.102
		Acumulado	11.67	1.79–19.30		
Raíces	R1	TC1507	6.29	4.63–8.85	0.61	0.117
		Acumulado	5.52	4.40–7.71		
Polen	R1	TC1507	22.69	19.96–26.85	1.41	0.371
		Acumulado	21.79	20.30–23.51		
Granos	R6	TC1507	3.35	2.75–4.28	0.19	0.149
		Acumulado	3.56	3.08–4.49		
Planta	R1	TC1507	5.88	3.72–7.82	0.93	0.152
		Acumulado	4.84	3.38–7.69		

Las unidades son  $\mu\text{g/g}$  de peso seco. N=10. Acumulado: maíz Bt11xMIR162xTC1507xGA21.

Fuente Syngenta Agro SA

**Tabla 5: Concentraciones de la proteína mEPSPS en tejidos del maíz GA21 y Bt11xMIR162xTC1507xGA21**

Tejido	Estadio	Híbrido	Media	Rango	SD	P
Hojas	V10	GA21 <sup>a</sup>	31.03	22.85–42.09	4.01	0.978
		Acumulado	31.11	19.41–55.38		
Hojas	R1	GA21	21.30	16.83–28.26	0.77	<b>0.001</b>
		Acumulado	12.74	8.24–18.35		
Raíces	R1	GA21	14.08	8.36–23.09	2.03	0.06
		Acumulado	10.74	5.70–21.93		
Polen	R1	GA21	179.84	161.96–208.75	24.35	<b>0.045</b>
		Acumulado	224.06	191.48–266.76		
Granos	R6	GA21	4.73	2.58–6.56	0.86	0.486
		Acumulado	5.15	3.52–7.09		
Planta	R1	GA21	10.75	7.56–12.55	1.32	0.313
		Acumulado	9.78	7.47–12.14		

Las unidades son  $\mu\text{g/g}$  de peso seco. N=10. a N=9. Acumulado: maíz Bt11xMIR162xTC1507xGA21. Los resultados que difieren estadísticamente con  $p < 0,05$  se indican en negrita e itálica.

Fuente Syngenta Agro SA



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

**Tabla 6: Concentraciones de la proteína PAT en tejidos de maíces Bt11, TC1507 y Bt11xMIR162xTC1507xGA21**

Tejido	Estadio	Híbrido	Media	Rango	SD
Hojas	V10	Bt11	0.31	0.26–0.56	0.09
		TC1507	4.72	3.30–7.18	1.08
		Acumulado	4.95	4.34–5.91	0.54
Hojas	R1	Bt11	0.58	0.42–0.68	0.07
		TC1507	6.26	4.94–7.20	0.74
		Acumulado	4.72	1.72–6.85	1.92
Raíces	R1	Bt11	0.73	0.51–0.98	0.14
		TC1507	0.35	0.23–0.47	0.07
		Acumulado	0.72	0.33–0.95	0.19
Planta	R1	Bt11	0.58	0.41–0.75	0.12
		TC1507	1.09	0.64–1.70	0.33
		Acumulado	1.02	0.51–1.67	0.38

Las unidades son  $\mu\text{g/g}$  de peso seco. N=10. Acumulado: maíz Bt11xMIR162xTC1507xGA21. Para polen y granos las cantidades de proteína estuvieron por debajo del límite de detección.

Nota: Debido a que el evento Bt11xMIR162xTC1507xGA21 contiene dos copias funcionales del gen *pat*, el análisis estadístico de las concentraciones de Pat no se llevó a cabo ya que se espera que estas concentraciones sean diferentes.

Fuente Syngenta Agro SA

#### 4. Estabilidad fenotípica y genética

En el maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21 cada uno de los *loci* se transfiere a la progenie segregando independientemente unos de otros y siguiendo en cada caso un patrón mendeliano simple. La integridad de los insertos ha sido verificada experimentalmente a través de sucesivas generaciones.

#### 5. Patogenicidad para otros organismos



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca*

Si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en el maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21 provienen de fitopatógenos (promotor 35S del CaMV, terminador *nos* proveniente de *A. tumefaciens*, la señal de poliadenilación del transcrito 35S del CaMV, las secuencias de los bordes de la región T, originarios de *A. tumefaciens* y la señal de terminación de transcripción ORF25 PolyA proveniente del plásmido pTi15955 de *A. tumefaciens*), no se prevén riesgos de patogenicidad dados por dichos elementos.

## **6. Potencial para producir impactos en el agroecosistema**

Estudios a campo de evaluación agronómica del maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21 en forma comparativa con el maíz isogénico convencional, demuestran que su comportamiento no se ha modificado más allá de las características intencionalmente introducidas.

Ensayos de laboratorio indican que existe una baja probabilidad de resistencia cruzada entre las proteínas insecticidas Cry1F, Cry1Ab y Vip3a20 que se expresan en las plantas con el evento. Además, dichos ensayos no mostraron efectos antagónicos o sinérgicos entre las proteínas mencionadas. Tampoco se observaron interacciones en estudios de tolerancia a los herbicidas glifosato y glufosinato.

## **7. Potencial tóxico o alergénico**

Las secuencias de aminoácidos de las proteínas nuevas expresadas en el maíz comprendido en este documento comparadas con las secuencias de proteínas tóxicas o alergénicas conocidas, no muestran niveles de identidad que permitan indicar posibles efectos tóxicos o alergénicos.



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca  
Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca*

Los estudios de estabilidad de las proteínas nuevas expresadas muestran que son rápidamente degradadas en el fluido gástrico simulado (FGS) indicando así, que no presentan características que hagan suponer efectos alérgicos.

Los estudios de toxicidad aguda en ratones muestran ausencia de efectos tóxicos de las proteínas Cry1Ab, Cry1F, Pat, mEPSPS, Vip3Aa20 y Pmi en mamíferos.

Estudios de alimentación de pollos han verificado la aptitud nutricional del maíz GM, y aportan evidencias adicionales para descartar posibles efectos no intencionales que pudieran haberse producido como resultado de la acumulación de los eventos individuales.

## **8. Composición centesimal del OVG**

Las comparaciones de la composición centesimal, tanto en forraje como en grano, del maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21 con el control de maíz convencional indicaron que este evento acumulado presenta en ambos casos composiciones centesimales equivalentes.

## **9. Recomendación**

En función de las características del maíz GM Bt11xMIR162xTC1507xGA21, y ante la eventual obtención de la autorización para su comercialización, se recomienda que se implemente un plan de prevención y manejo de generación de resistencias en las malezas e insectos Lepidópteros.