

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Maíz genéticamente modificado (GM) MON-87419-8, que confiere tolerancia a herbicidas formulados en base a dicamba y glufosinato de amonio, presentado por Monsanto Argentina S.R.L. El presente Documento de Decisión incluye al maíz GM MON-87419-8, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier maíz no GM.

A partir del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico disponible, los suscriptos, miembros de la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) y de la Dirección de Biotecnología acuerdan en dar por finalizada la Segunda Fase de Evaluación del maíz GM MON-87419-8. De esta evaluación se concluye que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación del mencionado maíz GM al agroecosistema, en cultivo a gran escala, no difieren significativamente de los inherentes al cultivo del maíz no GM.

El maíz GM MON-87419-8 ha sido ensayado a campo en Argentina desde 2011. Para tal fin fueron evaluadas por la CONABIA CUATRO (4) solicitudes de permisos, para experimentación y/o liberación confinada al agroecosistema que han cumplido con la normativa vigente para los Organismos Vegetales Genéticamente Modificados (OVGM), y han sido autorizadas por la entonces Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca del ex MAGyP y por la Secretaría de Agregado de Valor del MINISTERIO DE AGROINDUSTRIA.

El presente Documento de Decisión incluye al maíz GM MON-87419-8, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier maíz no GM.

I. CARACTERIZACIÓN DEL ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

1. Nombre común y científico: *Zea mays* subsp. *mays* (L.)

2. Denominación del evento: MON-87419-8

3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas

El evento de maíz MON-87419-8 confiere tolerancia a los herbicidas formulados en base a dicamba y glufosinato de amonio, otorgada por los productos de expresión de los genes *dmo* (DMO) y *pat* (PAT), respectivamente.

Las actividades biológicas de las proteínas DMO y PAT se demostraron a campo en un ensayo de dosis-respuesta a la aplicación de ambos herbicidas por separado. Este consistió en la comparación del nivel de daño entre el evento MON-87419-8 y su contraparte convencional. Asimismo, estas características también quedaron evidenciadas en el estudio de composición centesimal (Sección II 4) y de segregación (Sección II 1).

3.1. Modo de acción de los herbicidas

El glufosinato de amonio inhibe la actividad de la enzima glutamino sintetasa, compitiendo con el glutamato (sustrato natural) por el sitio activo, lugar donde ocurre la condensación de glutamato con amoníaco para dar glutamina. Esta inhibición evita la síntesis de L-glutamina, que no sólo es un precursor químico importante para la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, sino que además funciona como mecanismo para la incorporación de amoníaco en plantas. El tratamiento con glufosinato de amonio provoca la acumulación de amoníaco y el cese de la fotosíntesis.

El dicamba es un herbicida sistémico que controla especies dicotiledóneas. Es absorbido principalmente por el follaje y, en menor medida por vía radical. Se transporta por floema y xilema hacia los puntos de crecimiento. Se trata de un compuesto hormonal sintético de la familia del ácido benzoico que actúa incrementando la elongación y división celular de manera similar a las auxinas. De esta forma, la aplicación de dicho herbicida provoca un aumento de la concentración de este tipo de fitohormonas, induciendo anomalías en el crecimiento y en la expresión génica.

3.2. Mecanismo de acción de los productos de expresión

La enzima fosfotricina acetil transferasa (PAT), cataliza específicamente la acetilación del glufosinato de amonio en su extremo N-terminal generando una molécula inactiva. De esta manera, la tolerancia es conferida por la modificación del herbicida permitiendo a la planta continuar con los procesos biológicos habituales. Es importante señalar que la enzima PAT no presenta actividad con el glutamato, cuya estructura es similar al glufosinato de amonio, lo cual denota una especificidad elevada.

La proteína dicamba mono-oxigenasa (DMO), es una enzima con función oxigenasa y forma parte de un sistema de tres componentes que cataliza la desmetilación de dicamba

convirtiéndolo en formaldehído y en ácido 3,6-diclorosalicílico (DCSA), un compuesto sin actividad herbicida.

4. Modificaciones genéticas introducidas:

4.1. Método de obtención del OVG

El evento MON-87419-8 ha sido obtenido por transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

4.2. Secuencias introducidas

A continuación, se detallan los elementos presentes en el inserto según su disposición en el evento MON-87419-8.

Elemento genético	Descripción	Función
ADN-T I		
B1-Región del Borde Derecho	Región de ADN proveniente de <i>A. tumefaciens</i> que contiene la secuencia del borde derecho utilizado para la transferencia del ADN-T.	Secuencia utilizada para la transferencia del ADN-T.
P-Ubq	Promotor del gen de <i>ubiquitina</i> (Ubq) de <i>Andropogon gerardii</i> que inicia y dirige su transcripción.	Secuencia promotora que dirige la transcripción del gen <i>pat</i> .
L-Ubq	Región 5' no codificante del gen <i>ubiquitina</i> (Ubq) de <i>A. gerardii</i> que se encuentra involucrada en la regulación de la expresión génica.	Secuencia involucrada en la regulación de la expresión del <i>cassette pat</i> .
I-Ubq	Intrón del gen <i>ubiquitina</i> (Ubq) de <i>A. gerardii</i> que se encuentra involucrado en la regulación de la expresión génica.	Secuencia involucrada en la regulación de la expresión del <i>cassette pat</i> .
CS5-pat	Secuencia codificante del gen <i>pat</i> de <i>Streptomyces viridochromogenes</i> que codifica la proteína <i>Phosphinothricin N-acetyltransferase</i> (PAT).	Secuencia que codifica la proteína PAT para confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio.
T6-Ara5	Secuencia de la región 3' no codificante del	Región 3' no codificante que

	gen precursor <i>RAB5</i> de <i>Oryza sativa</i> , un miembro de la familia de genes inhibidores de la alfa-amilasa/tripsina (<i>Ara5</i>).	finaliza la transcripción del gen <i>pat</i> y dirige la poliadenilación del ARNm.
P-PCISV	Promotor del virus de la mancha clorótica del maní (en inglés, PCSV) que dirige la transcripción en células vegetales.	Secuencia promotora que dirige la transcripción del gen <i>dmo</i> .
L-Cab	Secuencia líder de la región 5' no codificante de la proteína a/b de unión a clorofila (CAB) de <i>Triticum aestivum</i> . Esta secuencia está involucrada en la regulación de la expresión génica.	Secuencia involucrada en la regulación de la expresión del <i>cassette dmo</i> .
I-Ract1	Intrón y región 5' no codificante del gen <i>act1</i> de <i>O. sativa</i> que codifica para la proteína <i>Actin 1</i> . Esta secuencia está involucrada en la regulación de la expresión génica.	Secuencia involucrada en la regulación de la expresión del <i>cassette dmo</i> .
TS-CTP4	Secuencia de direccionamiento y región 5' no codificante del gen <i>ShkG</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> que codifica para la región del péptido de tránsito al cloroplasto de la proteína EPSPS.	Secuencia que dirige el transporte de la proteína DMO al cloroplasto en células vegetales.
CS-dmo	Secuencia codificante del gen <i>dmo</i> de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> que codifica la proteína Dicamba mono-oxigenasa (DMO).	Secuencia que codifica la proteína DMO que confiere tolerancia a dicamba.
T-Hsp17	Secuencia de la región 3' no codificante del gen que codifica la proteína de shock térmico Hsp17 de <i>T. aestivum</i> . Esta secuencia dirige la poliadenilación del ARNm.	Región 3' no codificante que finaliza la transcripción del gen <i>dmo</i> y dirige la poliadenilación del ARNm
B-Región del Borde izquierdo	Región de ADN proveniente de <i>A. tumefaciens</i> que contiene la secuencia del borde izquierdo utilizado para la transferencia del ADN-T.	Secuencia del borde izquierdo utilizada para la transferencia del ADN-T.

4.3. Número de copias, integridad y/o rearrreglos dentro de los insertos.

Para la obtención del evento se utilizó el vector PV-ZMHT507801 que contiene dos ADN-T independientes, cada uno de ellos, delineado por regiones de borde izquierdo y derecho. El primer ADN-T, denominado ADN-T I, contiene el *cassette* de expresión *dmo* y el

cassette de expresión *pat*. El segundo ADN-T, denominado ADN-T II, contiene un *cassette* de selección (expresa CP4 EPSPS). Durante la transformación, ambos ADN-T fueron integrados al genoma de maíz. Sin embargo, mediante cruzamientos convencionales, segregación y selección, se aislaron aquellas plantas que contenían los *cassettes* de expresión *dmo* y *pat* (ADN-T I) y que no contenían el *cassette* de expresión CP4 EPSPS (ADN-T II). Es decir, el evento MON-87419-8 sólo posee el ADN-T I cuyos elementos fueron detallados en el punto 4.2.

El análisis molecular confirmó que los genes y sus secuencias regulatorias, así como los elementos adicionales presentes en el ADN-T I se encuentran formando parte de un único inserto, presente en una sola copia y que reside en un locus único en el genoma del maíz MON-87419-8. Su inserción e integridad fue verificada mediante Secuenciación de Nueva Generación (*Next Generation Sequencing*, NGS) y el Análisis Bioinformático de Secuencias de Unión (*Junction Sequence Analysis*, JSA), así como también mediante técnicas clásicas de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) y posterior secuenciación directa. El alineamiento de las secuencias del inserto con el plásmido (PV-ZMHT507801), utilizado en la transformación, mostró que la organización y disposición de los elementos genéticos se mantuvieron, con el esperable acortamiento de las regiones del borde derecho e izquierdo.

Los datos obtenidos en el análisis de NGS/JSA correspondiente a la búsqueda de secuencias del plásmido PV-ZMHT507801 mostraron que no se encuentra presente en el genoma de la planta ningún otro elemento del vector que estuviera ubicado por fuera de la región del ADN-T I.

4.4. Regiones flanqueantes a los insertos

Se realizaron análisis de PCR y de secuenciación directa con el objetivo de estudiar las secuencias de ADN flanqueantes a los extremos 5' y 3' del inserto en el maíz MON-87419-8. El análisis confirma que los extremos del inserto corresponden a las secuencias remanentes del borde derecho e izquierdo del plásmido Ti como es de esperar para una transformación mediada por *A. tumefaciens*. Además, los resultados de los alineamientos de las secuencias flanqueantes 5' y 3' y del genoma del maíz convencional (LH244) demuestran la delección de 602 pares de bases del genoma de MON-87419-8 en el sitio de inserción.

A su vez, la secuencia nucleotídica del sitio de inserción del genoma fue sometida a una análisis de BLAST (versión 2.2.21). La misma incluyó los algoritmos BLAST-n, donde se comparó con las bases de datos de EST_2014 (*GenBank expressed sequence tag database*) y NT_2014 (*non-redundant nucleotide database*), y BLAST-x, donde se comparó con la base de datos NR_2014 (*non-redundant amino acid database*). Los resultados

indican que es muy poco probable que durante la inserción del ADN-T se hayan interrumpido genes y/o elementos regulatorios en el sitio de inserción o en sus regiones flanqueantes.

Finalmente, el inserto de ADN-T I se encuentra integrado en el cromosoma 9 del genoma del maíz portador del evento MON-87419-8.

5. Método de Detección

La presencia del evento MON-87419-8 puede ser determinada experimentalmente mediante la técnica molecular de PCR utilizando secuencias de oligonucleótidos específicos para el evento, analizando cualquier tipo de muestra que contenga ADN de este maíz GM con un mínimo grado de integridad que permita su amplificación.

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Estabilidad genética y fenotípica

La estabilidad genética del evento MON-87419-8 se verificó mediante análisis de NGS/JSA, a lo largo de 5 generaciones de cruzamiento convencional.

Además, se compararon mediante una prueba de Chi-cuadrado las proporciones observadas de segregantes positivos y negativos del ADN T-I con las esperadas de acuerdo con los principios mendelianos de herencia en 3 generaciones (BC1F1, BC2F2 y BC2F1). En las generaciones BC1F1 y BC2F2 se evaluó la presencia de los genes *dmo* y *pat* por PCR en tiempo real y mientras que en la generación BC2F1 se comprobó la tolerancia a glufosinato de amonio. Estos análisis de segregación demostraron que, de acuerdo a lo esperado para un inserto integrado en un único locus de forma estable, los genes *dmo* y *pat*, se transfieren a la progenie siguiendo un patrón mendeliano simple.

Por otro lado, se comprobó la estabilidad fenotípica del evento MON-87419-8 en los ensayos de dosis-respuesta (Sección I 3) y de composición centesimal (Sección II 4).

2. Productos de expresión de las secuencias introducidas

Durante la campaña 2013 se llevaron a cabo ensayos a campo para analizar la expresión de las proteínas DMO y PAT. Dichos estudios se realizaron en 5 localidades representativas de la zona de producción maicera de los Estados Unidos con 4 réplicas por localidad. Mediante la técnica de ELISA, se cuantificó la cantidad de proteína expresada

(Tabla 1 y 2) en tejidos de hoja (V3 y VT), raíz (V3 y R5), forraje (R5) y grano (R6) del evento MON-87419-8 con aplicación de los herbicidas.

Los valores promedio de la expresión de la proteína DMO en el evento MON-87419-8 oscilaron entre 0.19 µg/g de peso seco en grano (R6) y 27 µg/g de peso seco en tejido foliar (VT) (Tabla 1).

Tabla 1: Resumen de los niveles de expresión de la proteína DMO en el maíz MON87419-8.

Tipo de Tejido	Estadio del Desarrollo ¹	Media (DE) Rango (µg/g pf) ²	Mean (DE) Rango (µg/g ps) ³	LC/LD (µg/g pf) ⁴
Hoja #1	V3	3.7 (0.77) 1.9-5.1	26 (6.6) 13-37	0.157/0.027
Hoja #2	VT	6.1 (1.1) 2.6-7.7	27 (5.7) 11-36	0.157/0.027
Raíz	V3	0.81 (0.16) 0.58-1.1	7.4 (1.4) 5.0-11	0.125/0.038
Raíz de Forraje	R5	1.8 (0.58) 0.96-3.0	9.0 (2.5) 3.8-13	0.125/0.038
Forraje	R5	1.8 (0.62) 1.0-3.7	6.0 (2.7) 3.1-14	0.157/0.024
Grano	R6	0.17 (0.044) 0.13-0.29	0.19 (0.048) 0.14-0.31	0.125/0.022

¹ Estadio del desarrollo del cultivo en el cual cada tejido fue recolectado.

² Los niveles de proteína son expresados como la media aritmética y desvío estándar (DE) en microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). La media, desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido combinando los datos a través de todas las localidades (N=20 excepto en grano donde N=11 debido a que nueve muestras presentaron niveles de proteína por debajo del límite de cuantificación, < LC).

³ Los niveles de proteína son expresados como la media aritmética y desvío estándar (DE) en microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores en base al peso seco fueron calculados dividiendo el valor en µg/g pf por el factor de conversión a peso seco obtenido de los datos del análisis de humedad.

⁴ LC= Límite de Cuantificación; LD= Límite de Detección.

Fuente: Monsanto.

Los valores promedio de la expresión de la proteína PAT en el evento MON-87419-8 oscilaron entre 0.93 µg/g de peso seco en grano (R6) y 13 µg/g de peso seco en tejido foliar (VT). (Tabla 2).

Tabla 2: Resumen de los niveles de expresión de la proteína PAT en el maíz MON87419-8.

Tipo de Tejido	Estadio del Desarrollo ¹	Media (DE) Rango (µg/g pf) ²	Mean (DE) Rango (µg/g ps) ³	LC/LD (µg/g pf) ⁴
Hoja #1	V3	1.5 (0.35) 1.1-2.4	11 (2.7) 7.0-17	0.094/0.043
Hoja #2	VT	3.1 (0.92) 1.5-5.5	13 (3.6) 7.0-23	0.094/0.043
Raíz	V3	0.84 (0.18) 0.49-1.3	7.7 (1.3) 4.7-11	0.094/0.037
Raíz de Forraje	R5	0.85 (0.37) 0.35-1.6	4.1 (1.5) 1.6-6.4	0.094/0.037
Forraje	R5	1.6 (0.50) 0.92-2.3	5.0 (1.6) 2.8-8.5	0.094/0.014
Grano	R6	0.85 (0.25) 0.50-1.4	0.93 (0.27) 0.56-1.6	0.094/0.007

¹ Estadio del desarrollo del cultivo en el cual cada tejido fue recolectado.

² Los niveles de proteína son expresados como la media aritmética y desvío estándar (DE) en microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso fresco (pf). La media, desvío estándar y los rangos (valores mínimos y máximos) fueron calculados para cada tejido combinando los datos a través de todas las localidades (N=20).

³ Los niveles de proteína son expresados como la media aritmética y desvío estándar (DE) en microgramo (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base al peso seco (ps). Los valores en base al peso seco fueron calculados dividiendo el valor en µg/g pf por el factor de conversión a peso seco obtenido de los datos del análisis de humedad.

⁴ LC= Límite de Cuantificación; LD= Límite de Detección.

Fuente: Monsanto.

3. Análisis del potencial tóxico o alergénico

3.1. Productos de expresión

Enzima DMO

Con el objetivo de analizar posibles similitudes entre la secuencia del inserto con alérgenos conocidos, se tradujo la secuencia del ADN-T I insertado en el evento en los 6 marcos de lectura posibles. Luego se comparó la secuencia aminoacídica completa del inserto contra otras secuencias proteicas presentes en bases de datos conocidas usando el algoritmo FASTA. Como comparador se utilizaron secuencias de proteínas alergénicas, o

relacionadas a afecciones celíacas, disponibles en bases de datos derivadas del *Food Allergy Research and Resource Program Allergen Database* (Base de datos AD_2014). Se tomaron en cuenta aquellos alineamientos que exhibieron un E-score igual o inferior a 1×10^{-5} . Luego se consideraron los lineamientos del Codex (2009) que indican que sólo aquellas secuencias que, al ser comparadas con proteínas conocidas como alérgenos, presenten una identidad superior al 35% en un segmento de al menos 80 aminoácidos o un alineamiento perfecto de al menos 8 aminoácidos (epítopes lineales cortos), podrían poseer potencial alergénico. Las búsquedas efectuadas, no detectaron ningún alineamiento significativo con la secuencia de DMO, por tanto esta proteína codificada en el maíz MON-87419-8 no presenta similitud con alérgenos conocidos, es decir, no posee características alergénicas.

Por otro lado, se buscó identificar si la secuencia aminoacídica resultante de la traducción de la secuencia del ADN-T I insertado en el evento en los 6 marcos de lectura posibles presentaba similitud con proteínas conocidas como toxinas o proteínas biológicamente activas. Nuevamente se utilizó la herramienta de alineación de secuencias FASTA para comparar la secuencia resultante con aquellas secuencias de toxinas o proteínas biológicamente activas derivadas de la base de datos *GenBank* (versión 199), (Base de datos TOX_2014 y PRT_2014). El análisis indica que la secuencia de la proteína DMO no presenta similitud significativa a proteínas conocidas como toxinas o proteínas biológicamente activas, es decir, es altamente improbable que presente efectos adversos.

También se llevaron a cabo ensayos de digestibilidad en fluido gástrico simulado (SGF) y en fluido intestinal simulado (SIF) de la proteína DMO. Los mismos mostraron que, en el primer estudio, dicha proteína se degrada más de un 95% a los 30 segundos, mientras que en el último, se degrada por completo luego de 2 minutos de incubación.

Asimismo, se evaluó el efecto de la temperatura tanto sobre la integridad de la proteína DMO (a través de la técnica de SDS-PAGE), como sobre su actividad enzimática. La incubación a 95°C en solución acuosa durante 15 minutos afectó la integridad de la proteína. Dicha integridad se perdió notablemente luego de la incubación de 30 minutos. Al mismo tiempo, los estudios realizados mediante métodos enzimáticos para evaluar la actividad de la proteína, indicaron que luego de incubar la proteína durante 15 minutos a 55°C o más, la misma estuvo siempre por debajo del límite de detección. Por tanto, los resultados obtenidos muestran que la proteína DMO expresada en el maíz MON-87419-8 se comporta de forma predecible con una tendencia a la pérdida de actividad funcional a temperaturas de 55 °C o mayores.

Estos resultados tomados en conjunto conforman evidencia consistente para inferir que es altamente improbable que la proteína DMO tenga características alergénicas o tóxicas.

Enzima PAT

Por su parte, los análisis de la secuencia de la proteína PAT presente en el evento MON-87419-8, indicaron que dicha proteína es equivalente a las proteínas presentes en numerosos eventos GM que ya cuentan con aprobación comercial en Argentina y en otros países. No existe evidencia para suponer que sus características fisicoquímicas y funcionales (falta de potencial tóxico o alergénico, termosensibilidad y rápida digestibilidad) se hayan modificado en el maíz MON-87419-8.

3.2. Nuevos péptidos hipotéticos

Se analizó la presencia de nuevos péptidos hipotéticos en el inserto utilizando las secuencias traducidas a partir de los seis marcos de lectura del ADN-T I y de acuerdo a los criterios descritos en el punto anterior. Al compararse dichas secuencias con aquellas en la base de datos de alérgenos AD_2014, no se detectó ningún alineamiento significativo. Por otro lado, la búsqueda efectuada en la base de datos de toxinas TOX-2014 no identificó nuevos péptidos hipotéticos que cumplieran con los requisitos de similitud establecidos. Por último, se realizó un análisis bioinformático utilizando la base de datos de proteínas biológicamente activas PRT_2014. Además de detectarse las secuencias de elementos presentes en el inserto (DMO, PAT y el péptido de tránsito a cloroplasto de EPSPS) se mostraron algunos alineamientos estadísticamente significativos. Sin embargo, estas secuencias se encuentran interrumpidas por numerosos codones de terminación y los alineamientos requieren de numerosos *gaps* para su optimización. Por lo tanto, los resultados bioinformáticos indican que no se observa una similitud biológicamente relevante entre las secuencias traducidas del ADN T-I y las secuencias de alérgenos, toxinas o proteínas biológicamente activas.

Se evaluaron las regiones de unión entre la secuencia del inserto y las secuencias flanqueantes para identificar posibles nuevos marcos abiertos de lectura (*ORFs*, del inglés, *Open Reading Frames*) que pudieran haberse generado como producto de la inserción del ADN-T I en el genoma del maíz. Se identificaron aquellas secuencias comprendidas entre codones STOP (*ORFs* teóricos), luego se tradujeron en los seis marcos de lectura posibles y se seleccionaron aquellas con una longitud mínima de 8 aminoácidos. Se detectaron once secuencias aminoacídicas que fueron sujetas a un análisis bioinformático posterior.

Cada uno de estos polipéptidos fue comparado contra la base de datos de alérgenos AD_2014 utilizando el algoritmo FASTA. Se buscaron alineamientos con una similitud de secuencia mayor o igual al 35% en una longitud de al menos 80 aminoácidos. Asimismo, se utilizó un algoritmo de ventana móvil para detectar secuencias idénticas de 8 aminoácidos

contiguos que pudieran indicar un potencial alergénico. Ninguno de los 11 polipéptidos putativos mostró alineamientos significativos con las secuencias en la base de datos ni cumplieron con los requisitos de similitud establecidos. Asimismo, los resultados de la evaluación de toxicidad mostraron que no hubo alineamientos significativos entre los 11 polipéptidos putativos y las secuencias presentes en las bases de datos de toxinas TOX_2014. Por último, la comparación de estos polipéptidos con la base de datos de proteínas con actividad biológica PRT_2014 detectó un alineamiento significativo con una proteína hipotética del maíz de función desconocida que se ubicaría 66 nucleótidos río arriba del sitio de inserción en el genoma. Por tanto, no existen evidencias que sugieran una actividad biológica adversa.

Los resultados del análisis bioinformático señalan que aún en el improbable caso de que cualquiera de los polipéptidos hipotéticos codificados por la secuencia de los insertos y la secuencia del ADN genómico flanqueante de maíz resultaran traducidos, éstos no poseen similitud o identidad de secuencias con alérgenos, toxinas u otras proteínas con actividad biológica conocida. Por ende, no existen evidencias para inferir que éstas puedan resultar alergénicas, tóxicas o puedan tener alguna implicancia para la salud.

4. Composición centesimal del OVG

Se realizaron estudios composicionales comparativos entre el evento MON-87419-8 con aplicación de glufosinato de amonio y dicamba, y su contraparte convencional, siguiendo las recomendaciones de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD). Se determinaron los niveles de diversos componentes en muestras de grano (R8) y forraje (R5), obtenidas de ensayos a campo realizados en 5 localidades de Estados Unidos durante la campaña 2013.

Se determinaron los niveles de los componentes principales (humedad, lípidos, proteínas, y cenizas), fibra dietaria total, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos, minerales, vitaminas, anti-nutrientes (ácido fítico y rafinosa) y metabolitos secundarios (ácido ferúlico, furfural, y ácido p-coumárico) en muestras de grano. Asimismo, se midieron los componentes principales, carbohidratos, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra y minerales (calcio y fósforo) en muestras de forraje.

Se realizó un análisis estadístico interlocalidades, el cual mostró diferencias estadísticamente significativas para el nutriente manganeso en las muestras de grano entre el evento MON-87419-8 y su contraparte convencional. El evento exhibió un mayor nivel de este mineral respecto a su contraparte convencional. El valor medio del maíz MON-87419-8

para dicho componente se encontró dentro de la variabilidad natural del cultivo definida por el rango de valores observado en la literatura científica y en la base de datos del ILSI. Por lo tanto, la diferencia observada no fue considerada biológicamente relevante. Por otra parte, no se observaron diferencias significativas para los componentes analizados en las muestras de forraje.

A los fines del presente documento estos resultados se consideran indicativos de la ausencia de efectos no esperados producto de la transformación genética.

5. Potencial para producir impactos en el agroecosistema

5.1. Comportamiento agrofenotípico

Se realizaron estudios agrofenotípicos comparativos entre el evento MON-87419-8 y su contraparte convencional en 4 localidades de Argentina bajo diversas condiciones ambientales durante la campaña 2013-2014. Además, con el objeto de analizar los resultados en el contexto de la variabilidad natural del cultivo de maíz, se incluyeron 15 híbridos comerciales no GM de referencia.

Los parámetros evaluados fueron: recuento inicial y final de plantas, vigor, días al 50% de emisión de polen y de estigmas emergidos, altura de la espiga y de la planta, *stay green*, caída de espigas, plantas quebradas y volcadas, humedad del grano, peso hectolítrico y rendimiento, respuesta a factores de estrés abiótico, susceptibilidad a plagas y enfermedades.

Se realizó un análisis estadístico interlocalidades en el cual se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el evento MON-87419-8 y su contraparte convencional en los parámetros; recuento final de plantas y peso hectolítrico. El maíz GM exhibió un mayor recuento final de plantas (98,4 plantas/parcela) respecto a su contraparte convencional (93,1 plantas/parcela) y presentó un peso hectolítrico superior (68,6 kg/hl) al del control convencional (67,3 kg/hl). Sin embargo, los valores medios de dichos parámetros se encontraron dentro del rango registrado para los híbridos de referencia. Por lo tanto, dichas diferencias no son consideradas biológicamente relevantes.

Los resultados obtenidos demuestran que el evento MON-87419-8 objeto de la presente solicitud, exhibe un comportamiento agronómico equivalente a su contraparte convencional, excepto por las diferencias asociadas a las características intencionalmente introducidas.

Por lo expuesto, se concluye que el evento MON-87419-8 no presenta un comportamiento agrofenotípico inesperado que pueda ser indicativo de efectos no

intencionales producto de la transformación genética, o que pueda resultar en un impacto adverso sobre el agroecosistema.

5.2. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Se llevó a cabo un estudio de poder germinativo y dormición comparativo entre las semillas del evento MON-87419-8 (provenientes de 3 localidades de Estados Unidos) y las de su contraparte convencional. Se utilizó el protocolo de la Asociación de Analistas Oficiales de Semillas (AOSA), el cual recomienda una alternancia de temperaturas de 20°C/30°C. Asimismo, se ensayaron 6 regímenes de temperaturas adicionales: 5°C, 10°C, 20°C, 30°C, 10°C/20°C y 10°C /30°C.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de germinación y de semillas muertas del maíz MON-87419-8 y del híbrido convencional en los siguientes tratamientos térmicos: 10 °C, 30 °C y 10 °C/ 20 °C. Los valores promedios de ambos parámetros estuvieron dentro del rango de los híbridos de referencia, excepto para el tratamiento a 10°C en el cual las medias de semillas germinadas y muertas de MON-87419-8 se encontraron levemente por encima y por debajo del límite superior e inferior del rango de los maíces de referencia respectivamente. Sin embargo, dichas diferencias no implican un riesgo al agroecosistema.

Estos resultados indican que, en comparación con el maíz convencional, el evento MON-87419-8 no posee mayor capacidad de sobrevivir sin asistencia humana

Se concluye que los genes cuya expresión determinan el fenotipo de tolerancia a herbicidas formulados en base a dicamba y glufosinato de amonio sólo confieren una ventaja selectiva al maíz GM cuando se lo expone a los herbicidas ya mencionados, pero ello no es suficiente para que la planta adquiriera características de maleza.

5.3. Potencial para la transferencia horizontal o intercambio de genes del OVGm con otros organismos

La biología reproductiva del evento MON-87419-8 no es diferente a la del maíz no GM; además no existen en el país especies cultivables ni silvestres sexualmente compatibles con este cultivo.

A partir de la literatura científica disponible hasta el momento se sabe que no existen casos de transferencia horizontal desde maíz hacia microorganismos, vectores virales o

insectos. Por lo tanto, no existen razones para suponer que esta característica haya cambiado en el evento MON-87419-8.

Por otro lado, las características del evento MON-87419-8, al igual que cualquier otro maíz no GM, determinan que es improbable que pueda transferirse material genético desde los alimentos hacia los consumidores, o los microorganismos presentes en su tracto digestivo, como consecuencia de su ingesta. Asimismo, la acción degradadora de las enzimas digestivas sobre los ácidos nucleicos ingeridos con los alimentos y, fundamentalmente la ausencia de elementos de conjugación, transposición u otras formas de movilización que favorezcan la transferencia de genes desde el organismo en cuestión hacia otros organismos, hace que esto sea aún más improbable.

5.4. Patogenicidad para otros organismos

El maíz es reconocido como una planta no patógena para otros organismos y esta característica no se encuentra alterada en el maíz GM presente en este documento.

Por otro lado, si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en el evento de maíz MON-87419-8 provienen de fitopatógenos, no se encuentran presentes en dicho evento secuencias que confieran las correspondientes características patogénicas de los organismos de los que provienen, careciendo por lo tanto este evento de riesgos de patogenicidad.