

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Maíz genéticamente modificado Bt11xGA21 que contiene la acumulación de eventos Bt11 y GA21, los cuales confieren resistencia a insectos Lepidópteros (Bt11) y tolerancia al herbicida glifosato (GA21) respectivamente, presentado por la empresas Syngenta Agro S.A.

Sobre la base 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) recomiendan dar por concluida satisfactoriamente la gestión de la segunda fase de evaluación del maíz genéticamente modificado (GM) Bt11xGA21, atendiendo a que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación del OVGGM en el agroecosistema, en cultivo a gran escala, no son significativamente diferentes de los inherentes al cultivo de maíz no genéticamente modificado.

Este maíz GM contiene la acumulación de los eventos de transformación individualmente denominados Bt11 y GA21 y fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales conteniendo cada uno de ellos los eventos de transformación en forma separada, ambos comerciales en el país desde el año 2001 y 2005 respectivamente. Este maíz ha sido ensayado a campo en Argentina y para tal fin fueron solicitados ante la SAGPyA y evaluados por la CONABIA once (11) permisos para experimentación y/o liberación al medio agropecuario que han cumplido con la normativa vigente para los organismos genéticamente modificados (OGM), los que contaron con las correspondientes autorizaciones. Las liberaciones realizadas corresponden a los expedientes N° 258307/04; 106235/05; 216943/05; 242247/05; 80058/06; 270309/06; 315703/06; 84614/07; 119458/07; 233642/07 y 307101/07.

El presente Documento de Decisión incluye al maíz GM Bt11xGA21 conteniendo solamente la acumulación de eventos Bt11 y GA21, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier maíz obtenido en forma convencional no GM.

I. ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

1. Nombres común y científico: Maíz, *Zea mays* L.
2. Denominación del evento: Bt11xGA21. Acumulación de los eventos Bt11 y GA21.

3. Modificaciones introducidas:

Resistencia a insectos Lepidópteros (Bt11) y tolerancia al herbicida glifosato (GA21).

Para Bt11

3.1. Genes expresados en la planta:

3.1.1. Versión truncada del gen *cry1Ab*, proveniente de la bacteria *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* cepa HD-1, el cual codifica para la proteína insecticida CRY 1A(b) que confiere resistencia a insectos Lepidópteros.

3.1.2. 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.

3.1.3. 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 (CaMV35S).

3.2. Otros elementos:

3.2.1. La región *nos*´3 derivada del gen *nos* que codifica para la nopalina sintetasa es utilizada por los genes *cry1Ab* y *pat* como señal de terminación de la transcripción.

3.3. Integridad del inserto:

La integridad del inserto ha sido verificada experimentalmente a través de sucesivas generaciones mediante southern blot.

Para GA21

3.1. Genes expresados en la planta:

3.1.1. El gen mutado *epsps* (*mepsps*) expresa la enzima mutada del maíz mEPSPS (5-enolpiruvilsikimato-3-fosfato-sintasa) que confiere tolerancia al herbicida glifosato.

3.2. Otros elementos:

3.2.1. La expresión del gen está controlada por el promotor de actina 1 de arroz.

3.2.2. Región *nos* 3: la señal de terminación de transcripción y poliadenilación del ARN mensajero del gen *nos* de *A. tumefaciens* (que codifica para la enzima nopalina sintasa), que determina el fin de la transcripción.

3.3. Integridad del inserto:

La integridad del inserto ha sido verificada experimentalmente a través de sucesivas generaciones mediante southern blot.

II. EVALUACION DE RIESGO

1. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación.

Comparado con el maíz convencional, el maíz GM Bt11xGA21 no tiene mayor capacidad que sus homólogos convencionales de sobrevivir como maleza sin asistencia humana y en ausencia de los factores que le confieren alguna ventaja selectiva. La presencia de los genes cuya expresión determina los fenotipos de resistencia a insectos Lepidópteros y de tolerancia al herbicida glifosato, confiere una ventaja selectiva al maíz GM Bt11xGA21 cuando se lo expone al herbicida arriba mencionado, y en presencia de los insectos objetivo, pero ello no es suficiente para que adquiera características de maleza.

2. Potencial para la transferencia horizontal o intercambio de genes del OVGM con otros organismos.

2.1. En el maíz GM Bt11xGA21, no se espera que la producción de polen y su viabilidad sean diferentes a las del maíz que no ha sido modificado genéticamente. No existen en el país especies sexualmente compatibles del maíz cuya polinización con polen de maíz que contiene la acumulación de estos eventos pueda resultar en híbridos viables.

2.2. 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 Bt11xGA21.

2.3. Las características de este maíz GM Bt11xGA21, al igual que cualquier otro maíz no GM, determinan que es muy poco probable que puedan transferirse genes hacia microorganismos desde alimentos que contengan ácidos nucleicos y que sean derivados de este maíz. Entre las razones para esta determinación pueden mencionarse: la acción degradadora de las enzimas digestivas sobre los ácidos nucleicos ingeridos con los alimentos y la ausencia, en el inserto, de elementos de conjugación, transposición u otras formas de movilización que favorezcan la transferencia de genes desde los materiales involucrados hacia

microorganismos.

2.4 La presencia de los genes introducidos en este maíz puede ser determinada experimentalmente mediante técnicas moleculares de dominio corriente como ser la reacción en cadena de la polimerasa (PCR de sus siglas en inglés).

3. Productos de la expresión de los genes introducidos.

3.1. Niveles de expresión de las proteínas codificadas por los genes introducidos:

Se ha demostrado experimentalmente que los niveles de expresión de los genes introducidos en esta acumulación de eventos no son diferentes a los niveles de expresión de sus parentales. Esta determinación se ha realizado en diferentes tejidos y estadios de crecimiento del ciclo del cultivo.

CRY 1A(b). Concentraciones en base a peso seco Evento Bt11 y Bt11xGA21 (maíz híbrido).(*)

Tejido	Híbrido	Estadio de desarrollo		
		V9-V12	Antesis	Maduración de la Semilla ¹
		Media de µg Cry1Ab/gramo p.s. +/- SD ² (Rango)		
Hojas	Bt11	33.81 +/- 3.21 (29.44—38.07)	35.81 +/- 6.97 (28.07— 46.70)	10.75 +/- 1.02 (9.92 – 12.44)
	Bt11xGA21	36.96 +/- 7.56 (30.99—49.10)	34.09 +/- 2.60 (30.61 – 37.43)	10.48 +/- 1.29 (9.11 – 11.82)
Raíces	Bt11	13.90 +/- 1.51 (11.90– 15.81)	9.47 +/- 0.61 (8.59 – 10.15)	4.66 +/- 0.37 (4.27 – 5.20)
	Bt11xGA21	16.60 +/- 2.26 (14.35 –19.95)	11.67 +/- 1.50 (9.46 – 12.97)	4.79 +/- 0.29 (4.51 – 5.09)
Granos	Bt11	N/A ³	N/A	1.24 +/- 0.32 (0.84 – 1.6)
	Bt11xGA21	N/A	N/A	0.99 +/- 0.15 (0.86 – 1.18)
Polen ⁴	Bt11	N/A	0.10	N/A
	Bt11xGA21	N/A	0.12	N/A

1) N=4 para el híbrido Bt11 x GA21 para todos los tejidos en el estadio de maduración de la semilla.

2) N=5, a menos que se afirme otra cosa. Los valores se determinaron por ELISA y no se han corregido por eficiencia de extracción.

3) N/A= No corresponde (el tipo de tejido no se encuentra en este estadio).

4) Un estudio muestra analizado por triplicado como fue recibido (secado al aire durante la noche). Los valores representan la media de las tres extracciones.

(*) información suministrada por el solicitante

PAT. Concentraciones en base a peso seco Evento Bt11 y Bt11xGA21 (maíz híbrido).(*)

Tejido	Híbrido	Estadio de desarrollo		
		V9-V12	Antesis	Maduración de la Semilla ¹
Media de µg PAT/gramo p.s. +/- SD ² (Rango)				
Hojas	Bt11	0.11+/- 0.01 (0.12—0.10)	0.10 +/- 0.01 (0.09— 0.11)	<0.041
	Bt11xGA21	0.13+/- 0.02 (0.11—0.14)	0.11+/- 0.01 (0.10 – 0.14)	<0.041
Raíces	Bt11	0.11+/- 0.02 (0.09—0.13)	0.16+/- 0.02 (0.13—0.17)	0.13+/- 0.01 (0.12—0.14)
	Bt11xGA21	0.11+/- 0.02 (0.08—0.13)	0.16+/- 0.04 (0.13—0.22)	0.10+/- 0.03 (0.05—0.13)
Granos	Bt11	N/A ³	N/A	<0.021
	Bt11xGA21	N/A	N/A	<0.021
Polen ⁴	Bt11	N/A	0.023	N/A
	Bt11xGA21	N/A	0.023	N/A

1) N=4 para el híbrido Bt11 x GA21 para todos los tejidos en el estadio de maduración de la semilla.

2) N=5, a menos que se afirme otra cosa. Los valores se determinaron por ELISA y no se han corregido por eficiencia de extracción.

3) N/A= No corresponde (el tipo de tejido no se encuentra en este estadio).

4) Un estudio muestra analizado por triplicado como fue recibido (secado al aire durante la noche). Los valores representan la media de las tres extracciones.

(*) información suministrada por el solicitante

mEPSPS. Concentraciones en base a peso seco Evento GA21 y Bt11xGA21 (maíz híbrido).(*)

Tejido	Híbrido	Estadio de desarrollo		
		V9-V12	Antesis	Maduración de la Semilla ¹
Media de µg mEPSPS/gramo p.s. +/- SD ² (Rango)				
Hojas	GA21	82.94 +/- 6.01 (75.85– 91.21)	92.96 +/- 12.73 (75.63– 103.55)	24.75 +/- 5.12 (20.16 – 31.93)
	Bt11xGA21	87.02 +/- 9.21 (76.77--99.44)	86.35 +/- 6.73 (79.76—96.57)	30.53 +/- 6.92 (22.26 – 36.42)
Raíces	GA21	39.56 +/- 6.13 (31.98—45.58)	39.04 +/- 3.37 (34.93—42.71)	13.89 +/- 1.69 (11.59 – 15.80)
	Bt11xGA21	36.38 +/- 7.04 (24.80—42.39)	35.50 +/- 1.07 (33-89 – 36.76)	12.61 +/- 0.87 (11.32 – 13.13)
Granos	GA21	N/A ³	N/A	6.08 +/- 0.26 (5.78 – 6.41)
	Bt11xGA21	N/A	N/A	5.35 +/- 0.50 (4.77 – 5.98)
Polen ⁴	GA21	N/A	65.32	N/A
	Bt11xGA21	N/A	80.53	N/A

1) N=4 para el híbrido Bt11 x GA21 otra cosa. Los valores se determinaron por ELISA y no se han corregido por eficiencia de extracción.

3) N/A= No corresponde (el tipo de tejido no se encuentra en este estadio).

4) Un estudio muestra analizado por triplicado como fue recibido (secado al aire durante la noche). Los valores representan la media de las tres extracciones.

(*) información suministrada por el solicitante

4. Estabilidad fenotípica y genética.

4.1. Los estudios de segregación del GM Bt11xGA21 muestran que las características fenotípicas que se expresan debido a la introducción de los genes principales segregan de acuerdo a las leyes mendelianas como dos *loci* no ligados.

4.2. En base al conocimiento que se tiene del comportamiento de los parentales y a la información de la que se dispone sobre la acumulación de estos eventos de la no se espera una diferencia en el comportamiento a campo del maíz conteniendo esta acumulación de eventos con respecto a los parentales y su contraparte no GM, más allá de las características que confieren los genes introducidos. Los mecanismos de acción de cada uno de los genes son independientes y no se espera interacciones entre ellos. La estabilidad de los eventos, los niveles de expresión de las proteínas, la especificidad de las proteínas insecticidas y el comportamiento agronómico de los parentales, no

revelan que pueda haber una de interacción entre los mecanismos de acción de los dos eventos.

5. Patogenicidad para otros organismos.

5.1. El maíz es reconocido como una planta no patógena, y esta característica no se encuentra alterada en el maíz que contiene la acumulación de eventos Bt11 y GA21.

5.2. Si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en el maíz que contiene la acumulación de eventos Bt11 y GA21 provienen de fitopatógenos (el promotor y la señal de poliadenilación del transcritto 35S del CaMV y la señal de terminación de transcripción del gen *nos* originario de *Agrobacterium tumefaciens*), no se encuentran presentes en dicha acumulación los genes que confieren las correspondientes características patogénicas en los organismos de los que provienen, careciendo por lo tanto este evento de riesgos de patogenicidad producidos por estos elementos.

5.3 No son esperables efectos de toxicidad de las proteínas CRY1 A(b), PAT y mEPSPS en mamíferos. Estas proteínas son rápidamente degradadas en el fluido gástrico simulado y no presentan homologías de secuencias de aminoácidos con proteínas tóxicas o alergénicas conocidas. Los estudios de toxicidad aguda en ratones muestran ausencia de efectos tóxicos de estas proteínas.

6. Potencial para producir impactos en el agroecosistema.

En base al conocimiento previo de los eventos por separado, del nivel de exposición de los organismos presentes en el agroecosistema a las proteínas CRY1 A(b), PAT y mEPSPS, y del nivel de expresión de éstas en el maíz conteniendo la acumulación de eventos Bt11 y GA21, no son esperables efectos significativos de las mismas sobre especies de plagas no objetivo e insectos benéficos que frecuentan el cultivo de maíz GM Bt11xGA21. La especificidad de la proteína insecticida fue demostrada en el evento parental y no hay razones para suponer que su modo de acción pueda verse modificado por esta acumulación de eventos.

Basado en los puntos anteriores con respecto a: el nivel de expresión de las proteínas codificadas por los genes introducidos, la historia de uso seguro de sus parentales, la independencia de los mecanismos de acción de cada evento individual, la ausencia de toxicidad de las proteínas expresadas, la segregación de acuerdo a las leyes mendelianas y a la ausencia de interacción de estos eventos, es posible concluir que no se espera que las plantas portadoras de esta acumulación de eventos tengan un comportamiento a campo diferente de las que actualmente se encuentran disponibles en el mercado.

7. Potencial para producir efectos negativos sobre humanos.

La comparación de las secuencias de aminoácidos de las proteínas nuevas expresadas en el maíz GM Bt11xGA21, con las secuencias conocidas de proteínas tóxicas o alergénicas, no muestra homologías que permitan indicar posibles similitudes con las mismas. Por lo tanto, no son esperables efectos tóxicos o alergénicos producidos por el contacto y/o consumo de materiales vegetales que contienen la acumulación de eventos Bt11 y GA21.

8. Recomendación.

En función de las características del evento, se recomienda que se implemente un plan de prevención y manejo de resistencia.