



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

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Maíz genéticamente modificado que contiene el evento DP-Ø9814Ø-6 (OECD), aquí denominado DP-098140-6, que confiere tolerancia a herbicidas con dos diferentes modos de acción: glifosato y compuestos inhibidores de la enzima acetohidroxiácido sintasa (también llamada acetolactato sintasa, ALS), presentado por la empresa Pioneer Argentina S.R.L.

Sobre la base del análisis de la información presentada por los solicitantes y del conocimiento científico disponible, los suscriptos, miembros de la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) y de la Dirección de Biotecnología recomiendan dar por completada la gestión de la Segunda Fase de Evaluación del maíz genéticamente modificado (GM) DP-098140-6, concluyendo que los riesgos derivados de la liberación de este organismo vegetal genéticamente modificado (OVGM) en el agroecosistema, en cultivo a gran escala, no son significativamente diferentes de los inherentes al cultivo de maíz no GM.

El maíz GM DP-098140-6 fue obtenido por transformación con *Agrobacterium tumefaciens*. El maíz DP-098140-6 ha sido ensayado a campo en Argentina desde 2006 hasta 2008 y para tal fin fueron solicitados y evaluados por la CONABIA TRES (3) permisos para experimentación y/o liberación confinada al medio agropecuario que han cumplido con la normativa vigente para los OVGM, y han sido autorizados por la actual Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP).

El presente Documento de Decisión se aplica al maíz GM DP-098140-6 y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier maíz no GM obtenidos en forma convencional.

I. ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

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

2. Denominación del evento: DP-098140-6

3. Modificaciones introducidas: Tolerancia a herbicidas con dos diferentes modos de acción: glifosato y los compuestos inhibidores de la enzima acetohidroxiácido sintasa (también llamada acetolactato sintasa, ALS). Estas modificaciones están dadas por la introducción de los genes *gat4621* y *zm-hra* respectivamente.

3.1. Secuencias introducidas en el evento DP-098140-6

3.1.1. El gen *gat4621* codifica para la proteína N-acetiltransferasa denominada GAT4621 que acetila al glifosato confiriendo a la planta tolerancia a este herbicida. Este gen se obtuvo a través de la recombinación *in vitro* entre fragmentos de genes no similares (pero que codifican para proteínas con la misma actividad, en diferentes grados) con el objeto de crear una población de variantes del gen en cuestión de la que se seleccionaron nuevos genes recombinantes quiméricos, eligiéndose entre éstos la mejor variante, el que conferiría a la planta la mayor tolerancia al herbicida. Para este proceso se utilizaron



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

tres genes de las cepas 401, B6 y DS3 de *Bacillus licheniformis*. En el maíz motivo de la presente solicitud la expresión del gen *gat4621* está controlada por el promotor del gen de ubiquitina de maíz (*ubiZM1*), que incluye la región 5' no traducida y el intrón. En el extremo 3' del gen *gat4621* se encuentra la secuencia de terminación (*pinII*) del gen del inhibidor de la proteínasa II derivado de *Solanum tuberosum*.

3.1.2. El gen *zm-hra* es una versión modificada de un gen *als* endógeno de maíz sensible a los herbicidas inhibidores de la enzima ALS. La enzima ALS es esencial para la biosíntesis de los aminoácidos que contienen cadenas ramificadas. Esta versión modificada contiene dos cambios específicos en la secuencia de aminoácidos de la proteína expresada ZM-HRA, las que le confieren tolerancia a esos herbicidas. La expresión del gen *zm-hra* se encuentra controlada por el promotor *zm-als* del gen de maíz y contiene el péptido de tránsito al cloroplasto original del gen. En el extremo 3' del gen *zm-hra* se encuentra la secuencia de terminación (*pinII*) del gen que codifica para el inhibidor de la proteínasa II derivado de *Solanum tuberosum*. Todas las secuencias mencionadas en el punto 3.1.2, tienen orientación invertida respecto a las secuencias del punto 3.1.1.

3.1.3. Elementos adicionales

Para potenciar la expresión de los genes *gat4621* y *zm-hra*, se utilizaron tres copias de la región potenciadora del transcrito 35S derivado del Virus del Mosaico de Coliflor (CaMV).

3.1.4. Bordes

El inserto del maíz GM DP-098140-6 posee los bordes izquierdo y derecho de la región T del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* en los extremos correspondientes del inserto.

3.1.5. Integridad del inserto y número de copias del evento DP-098140-6

Los genes principales y sus secuencias regulatorias se encuentran formando parte de un único inserto, el cual se comporta como un locus único.

El inserto se encuentra en una sola copia y su integridad ha sido verificada experimentalmente a través de sucesivas generaciones mediante análisis de *Southern blot*.

3.1.5. Detección del evento DP-098140-6

La presencia de este evento puede ser determinada experimentalmente mediante técnicas moleculares de dominio corriente como es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR de su sigla en inglés).

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación



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

Comparado con el maíz convencional, el maíz GM DP-098140-6 no tiene mayor capacidad que sus homólogos convencionales de sobrevivir sin asistencia humana y/o de adquirir características de maleza. La presencia de los genes cuya expresión determina el fenotipo de tolerancia a glifosato y a los herbicidas inhibidores de la enzima ALS confieren una ventaja selectiva al maíz GM DP-098140-6 cuando se lo expone a esos herbicidas, pero ello no es suficiente para que la planta 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 DP-098140-6, la producción de polen y su viabilidad no son diferentes a las del maíz que no ha sido modificado genéticamente. No existen en el país especies sexualmente compatibles con maíz.

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 DP-098140-6.

2.3. Las características del maíz GM DP-098140-6, al igual que cualquier otro maíz no GM, determinan que es muy poco probable que, como 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

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

Las determinaciones de los niveles de expresión se han realizado en diferentes tejidos y estadios de crecimiento del ciclo del cultivo.



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

Niveles de proteína GAT4621 medidos en el maíz DP-098140-6 cultivado en Argentina, sin aplicación de herbicidas

Tejido	Etapa de Desarrollo	ng/mg de Tejido – Peso Seco			Número de Muestras <LLOQ/ Número de Muestras Analizadas
		LLOQ	Media	Rango	
Hoja	V9	0,22	68	50-90	0/18
	R1		71	54-96	0/18
	R4		47	32-78	0/17
	R6		0.76	<0.22-8.4	15/18
Raíz	V9	0,11	22	9.3-33	0/18
	R1		21	11-33	0/18
	R4		12	3.9-23	0/17
	R6		2.4	<0.11-6.9	4/18
Polen	R1	0,43	15	12-20	0/18
Planta Entera	V9	0,072	64	50-86	0/18
	R1		46	28-78	0/18
	R6		2.6	<0.072-8.2	2/18
Forraje	R4	0,072	17	12-38	0/17
Grano	R6	0,11	9.0	3.9-16	0/18

LLOQ : límite inferior de cuantificación

Fuente: Pioneer Argentina S.R.L..



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

Niveles de proteína GAT4621 medidos en el maíz DP-098140-6 cultivado en Argentina, con aplicación de herbicidas

Tejido	Etapa de Desarrollo	ng/mg de Tejido – Peso Seco			Número de Muestras <LLOQ/ Número de Muestras Analizadas
		LLOQ	Media	Rango	
Tratadas con Glifosato					
Hoja	V9	0.22	67	55-96	0/18
	R1		75	60-96	0/18
	R4		45	23-60	0/18
	R6		<0.22	<0.22	18/18
Raíz	V9	0.11	23	13-30	0/18
	R1		20	11-30	0/18
	R4		11	6.9-17	0/18
	R6		1.5	<0.11-4.8	5/18
Polen	R1	0.43	16	11-24	0/18
Planta Entera	V9	0.072	85	32-150	0/18
	R1		41	28-54	0/18
	R6		1.9	<0.072-10	2/18
Forraje	R4	0.072	26	14-44	0/18
Grano	R6	0.11	8.2	4.5-12	0/18
Tratadas con Nicosulfuron *					
Hoja	V9	0.22	61	44-78	0/18
	R1		79	56-110	0/18
	R4		43	21-59	0/18
	R6		0.24	<0.22-0.54	16/17
Raíz	V9	0.11	25	14-42	0/18
	R1		21	16-30	0/18
	R4		13	6.3-23	0/18
	R6		1.8	<0.11-8.4	6/17
Polen	R1	0.43	15	1.3-18	0/18



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

Tejido	Etapas de Desarrollo	ng/mg de Tejido – Peso Seco			Número de Muestras <LLOQ/ Número de Muestras Analizadas
		LLOQ	Media	Rango	
Planta Entera	V9	0.072	81	58-180	0/18
	R1		39	32-50	0/18
	R6		2.1	<0.072-11	4/17
Forraje	R4	0.072	29	14-44	0/18
Grano	R6	0.11	8.4	5.7-17	0/17
Tratadas con Glifosato + Nicosulfuron *					
Hoja	V9	0.22	65	52-90	0/18
	R1		79	52-110	0/18
	R4		45	30-72	0/18
	R6		<0.22	<0.22	18/18
Raíz	V9	0.11	28	20-36	0/18
	R1		22	15-33	0/18
	R4		11	5.4-20	0/18
	R6		2.8	<0.11-7.5	6/18
Polen	R1	0.43	15	12-19	0/18
Planta Entera	V9	0.072	56	36-82	0/18
	R1		41	26-54	0/18
	R6		2.3	<0.072-5.6	3/18
Forraje	R4	0.072	28	14-44	0/18
Grano	R6	0.11	8.7	4.2-14	0/18

LLOQ: límite inferior de cuantificación

* Nicosulfuron : Herbicida inhibidor de la enzima ALS. Clasificación química: Sulfonilurea

Fuente: Pioneer Argentina S.R.L..



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

Niveles de proteína ZM-HRA medidos en el maíz DP-098140-6 cultivado en Argentina, sin aplicación de herbicidas

Tejido	Etapa de Desarrollo	ng/mg de Tejido – Peso Seco			Número de Muestras <LLOQ/ Número de Muestras Analizadas
		LLOQ	Media	Rango	
Hoja	V9	0.54	16	10-23	0/18
	R1		16	1.3-22	0/18
	R4		7.7	2.6-15	0/17
	R6		0.29	<0.54	18/18
Raíz	V9	0.27	0.69	0.30-0.96	0/18
	R1		0.78	0.33-1.6	0/18
	R4		0.50	<0.27-1.1	4/17
	R6		0.29	<0.27-0.48	15/18
Polen	R1	1.1	<1.1	<1.1	18/18
Planta Entera	V9	0.36	6.8	3.2-11	0/18
	R1		4.5	2.8-6.2	0/18
	R6	0.18	0.18	<0.18-0.24	17/18
Forraje	R4	0.36	2.0	0.36-4.0	0/17
Grano	R6	0.27	0.31	<0.27-0.66	13/18

LLOQ : límite inferior de cuantificación

Fuente: Pioneer Argentina S.R.L..



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

Niveles de proteína ZM-HRA medidos en el maíz DP-098140-6 cultivado en Argentina, con aplicación de herbicidas

Tejido	Etapa de Desarrollo	ng/mg de Tejido – Peso Seco			Número de Muestras <LLOQ/ Número de Muestras Analizadas
		LLOQ	Media	Rango	
Tratadas con Glifosato					
Hoja	V9	0.54	18	11-23	0/18
	R1		18	12-23	0/18
	R4		8.6	3-18	0/18
	R6		<0.54	<0.54	18/18
Raíz	V9	0.27	0.65	0.36-1.0	0/18
	R1		0.77	<0.27-1.6	1/18
	R4		0.42	<0.27-0.9	7/18
	R6		<0.27	<0.27-0.27	17/18
Polen	R1	1.1	<1.1	<1.1	18/18
Planta Entera	V9	0.36	8.1	3.4-11	0/18
	R1		4.2	2.6-6	0/18
	R6	0.18	0.18	<0.18-0.26	16/18
Forraje	R4	0.36	2.4	1.3-5.2	0/18
Grano	R6	0.27	0.3	<0.27-0.57	15/18
Tratamiento con Nicosulfuron *					
Hoja	V9	0.54	17	10-22	0/18
	R1		18	12-24	0/18
	R4		9.1	1.6-17	0/18
	R6		<0.54	<0.54	17/17
Raíz	V9	0.27	0.62	0.39-0.96	0/18
	R1		0.84	0.39-1.5	0/18
	R4		0.49	<0.27-1.1	3/18
	R6		0.29	<0.27-0.54	16/17
Polen	R1	1.1	<1.1	<1.1	18/18



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

Tejido	Etapa de Desarrollo	ng/mg de Tejido – Peso Seco			Número de Muestras <LLOQ/ Número de Muestras Analizadas
		LLOQ	Media	Rango	
Planta Entera	V9	0.36	6.8	4.8-12	0/18
	R1		3.7	2.6-5.8	0/18
	R6	0.18	0.24	<0.18-1.2	14/17
Forraje	R4	0.36	2.5	1.3-5.2	0/18
Grano	R6	0.27	0.32	<0.27-0.75	15/17
Tratamiento con Glifosato + Nicosulfuron					
Hoja	V9	0.54	17	11-23	0/18
	R1		18	10-25	0/18
	R4		7.8	1.4-13	0/18
	R6		<0.54	<0.54	18/18
Raíz	V9	0.27	0.73	0.42-1	0/18
	R1		0.81	0.42-1.3	0/18
	R4		0.4	<0.27-0.6	2/18
	R6		0.27	<0.27-0.3	17/18
Polen	R1	1.1	<1.1	<1.1	18/18
Planta Entera	V9	0.36	6.5	5.0-9.0	0/18
	R1		4.7	2.2-7.4	0/18
	R6	0.18	0.21	<0.18-0.44	12/18
Forraje	R4	0.36	2.3	0.88-4.0	0/18
Grano	R6	0.27	0.31	<0.27-0.54	14/18

LLOQ : límite inferior de cuantificación

* Nicosulfuron : Herbicida inhibidor de la enzima ALS. Clasificación química: Sulfonilurea.

Fuente: Pioneer Argentina S.R.L..

4. Estabilidad fenotípica y genética

4.1. Los estudios de segregación del maíz GM DP-098140-6 muestran que las características fenotípicas que se expresan debido a la introducción de los genes *gat4621* y *zm-hra* segregan de acuerdo a las leyes mendelianas como un solo locus.

5. Patogenicidad para otros organismos



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

5.1. El maíz es reconocido como una planta no patógena para otros organismos, y esta característica no se encuentra alterada en el maíz DP-098140-6.

5.2. Si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en el maíz GM DP-098140-6 provienen de fitopatógenos (la señal de poliadenilación del transcripto 35S del CaMV, y las secuencias de los bordes de la región T, originarios de *Agrobacterium tumefaciens*) no se encuentran presentes en el 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 producidos por dichos elementos.

6. Potencial para producir impactos en el agroecosistema

Observaciones de las respuestas a factores bióticos y abióticos del maíz GM DP-098140-6 en forma comparativa con el maíz isogénico convencional y con maíces híbridos comerciales de referencia mostraron que las características del maíz GM DP-098140-6 no alteraron la susceptibilidad a enfermedades y a factores de estreses abióticos en comparación con el maíz convencional. Ensayos de laboratorio realizados en roedores, aves y en especies representativas de invertebrados que se alimentan de tejido vegetal (*Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda*, *Coleomegilla maculata*, *Armadillum vulgare*, *Diabrotica virgifera virgifera*) y de las densidades de población de la microflora del suelo, no anticipan que el maíz GM DP-098140-6 presente en el agroecosistema un comportamiento ambiental diferente del maíz convencional.

7. Potencial tóxico o alergénico

Las comparaciones de las secuencias de aminoácidos de las proteínas nuevas expresadas en el maíz GM DP-098140-6, con las secuencias de proteínas tóxicas o alergénicas conocidas, no muestran niveles de identidad que permitan indicar posibles efectos tóxicos o alergénicos.

No son esperables efectos de toxicidad de las proteínas *gat4621* y *zm-hra* en mamíferos. Estas proteínas son rápidamente degradadas en el fluido gástrico simulado. Los estudios de toxicidad aguda en ratas muestran ausencia de efectos tóxicos de estas proteínas.

8. Composición centesimal del OVGM

Las comparaciones de la composición, tanto en forraje como en grano, del maíz GM DP-098140-6, con el control de maíz convencional y con varios híbridos de referencia, indicaron que el maíz GM DP-098140-6 presenta composiciones equivalentes al forraje y al grano provenientes del maíz no GM, salvo en aumento del contenido de los aminoácidos N-acetilglutamato y N-acetilaspartato. Este incremento es esperable como consecuencia de la actividad de la enzima GAT462. Estos aminoácidos acetilados son metabolitos presentes en las rutas metabólicas y componentes habituales de la dieta humana por encontrarse en una gran variedad de alimentos.

Estudios de alimentación de aves de corral no han mostrado diferencias entre aves alimentadas con dietas basadas en maíz GM DP-098140-6 en comparación con las dietas preparadas a base a líneas convencionales.



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

9. Recomendación

En función de las características del maíz GM DP-098140-6, y subsecuente a la eventual obtención de la autorización para su comercialización, se recomienda que se implemente un plan de prevención de la resistencia de las malezas, y de manejo de la misma.

En el momento de la comercialización del maíz GM DP-098140-6, los herbicidas inhibidores de la enzima ALS a los cuales dicho maíz presenta tolerancia deben contar con el correspondiente registro y con la autorización de uso en maíz.