



SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Maíz genéticamente modificado que contiene el evento SYN-IR162-4 (OECD), aquí denominado MIR162, que confieren resistencia a insectos Lepidópteros plaga, presentado por la empresa Syngenta Agro S.A.

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) MIR162, 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 MIR162 fue obtenido por transformación con *Agrobacterium tumefaciens*. El maíz MIR162 ha sido ensayado a campo en Argentina desde 2001 hasta 2010 y para tal fin fueron solicitados y evaluados por la CONABIA once (11) 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 MIR162 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: MIR162

3. Modificaciones introducidas: Resistencia a insectos Lepidópteros plaga dada por la introducción del gen *vip3Aa20*.

3.1. Secuencias introducidas en el evento MIR162

3.1.1. Gen principal: El gen *vip3Aa20* codifica para una proteína denominada Vip3Aa20, la cual es una variante de la proteína insecticida Vip3Aa proveniente de *Bacillus thuringiensis* cepa AB88, que confiere resistencia a insectos Lepidópteros plaga. Este gen se encuentra controlado por la secuencia promotoras del gen de poliubiquitina de *Zea mays* el cual contiene el primer intrón (*ZmUbilnt*). En el extremo 3' del gen *vip3Aa20* se encuentra el intrón 9 del gen de la fosfoenolpiruvato carboxilasa (*iPEPC9*), seguido de la secuencia terminadora del RNA 35S del genoma del Virus del Mosaico del Coliflor (CaMV) que provee la señal de poliadenilación.

3.1.2. Gen acompañante: 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. Este gen se encuentra controlado por la secuencia promotora del gen de poliubiquitina de *Z. mays* el cual contiene el primer intrón (*ZmUbi1nt*). La secuencia de terminación corresponde al gen de la nopalina sintasa de *A. tumefaciens* la cual provee la señal de poliadenilación.

3.1.3. Bordes

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

3.1.4. Integridad del inserto y número de copias del evento MIR162

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 MIR162

La presencia de este evento 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).

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Comparado con el maíz convencional, el maíz GM MIR162 no tiene mayor capacidad que sus homólogos convencionales de sobrevivir sin asistencia humana y/o adquirir características de maleza. La presencia del gen cuya expresión determina el fenotipo de resistencia a insectos Lepidópteros plaga confieren una ventaja selectiva al maíz GM MIR162 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 MIR162, 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 MIR162.



2.3. Las características del maíz GM MIR162, 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.

Concentraciones en base de peso seco de la proteína Vip3Aa20 en plantas de maíz conteniendo el evento MIR162.

Tejido	Media y rango de Vip3A20 en µg /g			
	V9-V12	Antesis	Maduración de la semilla	Senescencia
Hojas	97.26 (76.12 – 119.12)	107.74 (97.10 – 118.80)	121.79 (77.25 – 159.66)	21.31 (12.93 – 30.28)
Raíces	31.80 (28.10 – 35.65)	28.34 (26.30 – 30.20)	20.29 (9.87 – 27.48)	21.66 (11.58 – 32.13)
Tallo (médula)	N/A	31.71 (29.43 – 36.18)	58.21 (52.74 – 63.68)	N/A
Grano	N/A	N/A	43.56 (40.47 – 50.50)	34.24 (30.90 – 37.67)
Estigma	N/A	97.40 (60.54 – 149.00)	N/A	N/A
Polen	N/A	47.13 (41.45 – 53.52)	N/A	N/A
Planta completa	91.53 (88.68 – 96.51)	67.61 (61.68 – 72.63)	49.04 (34.84 – 63.14)	34.30 (21.12 – 55.17)

Concentraciones de Vip3Aa20 en muestras control negativas son <LOD ó <LOQ y no están incluidas en la tabla.
N/A = No analizado en este estadio.

LOD: Límite de detección

LOQ: Límite de cuantificación

FUENTE: Información remitida por el solicitante en el Expediente 507624/07



**Concentraciones de la proteína PMI en base a peso seco en plantas de maíz
conteniendo el evento MIR162**

	Media y rango de PMI en µg /g			
Tejido	V9-V12	Antesis	Maduración de la semilla	Senescencia
Hojas	11.12 (8.26 – 16.76)	9.75 (6.92 – 14.68)	5.77 (4.57 – 7.55)	<0.26 (<LOD – <LOQ)
Raíces	4.32 (3.17 – 7.08)	3.49 (2.51 – 5.22)	1.99 (1.08 – 3.09)	1.51 (0.47 – 2.53)
Tallo (médula)	N/A	2.01 (1.53 – 2.40)	2.75 (2.36 – 3.19)	N/A
Granos	N/A	N/A	1.93 (1.33 – 2.54)	0.75 (0.54 – 0.97)
Estigma	N/A	20.70 (12.60 – 27.16)	N/A	N/A
Polen	N/A	5.29 (3.82 – 7.62)	N/A	N/A
Planta completa	8.74 (7.49 – 9.75)	7.10 (6.32 – 7.61)	3.76 (2.16 – 5.37)	2.36 (1.85 – 3.09)

*< (menos que) indica que el valor estimado de LOQ o LOD se utilizó para representar las muestras cuando calcularon el promedio. Concentraciones de PMI en las muestras control negativo son <LOD or <LOQ y no están incluidas en la tabla.
N/A = No analizado en este estadio.

LOD: Límite de detección

LOQ: Límite de cuantificación

FUENTE: Información remitida por el solicitante en el Expediente 507624/07



Concentración media y rango de la proteína Vip3Aa20 en base a su peso fresco en plantas de maíz conteniendo el evento MIR162.

Tejido	V9-V12	Antesis	Maduración de la semilla	Senescencia
Vip3Aa20 µg/g peso fresco (Rango)				
Hojas	17.63 (13.11 – 22.35)	24.44 (21.08 – 29.07)	50.41 (35.85 – 60.92)	13.40 (8.87 – 18.20)
Raíces	5.23 (3.99 – 7.07)	4.32 (4.18 – 4.69)	4.81 (2.27 – 6.60)	5.29 (4.61 – 5.82)
Tallo (médula)	N/A	3.54 (3.17 – 4.16)	11.47 (10.21 – 12.75)	N/A
Granos	N/A	N/A	29.81 (27.78 – 34.13)	28.65 (25.06 – 32.42)
Estigmas	N/A	12.55 (8.05 – 18.91)	N/A	N/A
Polen ^b	N/A	43.21 (37.42 – 49.70)	N/A	N/A
Planta Completa	11.98 (8.96 – 15.39)	12.16 (11.51 – 12.97)	20.84 (15.54 – 25.98)	17.35 (13.24 – 24.07)

N/A = no analizado. Todos los resultados de ELISA han sido corregidos por la eficacia de extracción del método. Las concentraciones de Vip3Aa20 en los tejidos de plantas control fueron todas <LOD ó <LOQ.

^a No todos los tejidos fueron analizados en todos los estadios de crecimiento

^b – el polen fue analizado como se recibió, secado al aire y envío overnight

LOD: Límite de detección

LOQ: Límite de cuantificación

FUENTE: Información remitida por el solicitante en el Expediente 507624/07



Concentración media y rango de la proteína PMI en base a su peso fresco en plantas de maíz conteniendo el evento MIR162.

Tejido	V9-V12	Antesis	Maduración de la semilla	Senescencia
PMI µg/g peso fresco (Rango) ^b				
Hojas	2.02 (1.42 – 3.14)	2.18 (1.69 – 3.06)	2.44 (1.94 – 3.50)	< 0.17 (<LOD – <LOQ)
Raíces	0.69 (0.43 – 0.90)	0.54 (0.36 – 0.83)	0.48 (0.25 – 0.74)	0.36 (0.19 – 0.49)
Tallo (médula)	N/A	0.23 (0.17 – 0.27)	0.54 (0.47 – 0.62)	N/A
Granos	N/A	N/A	1.32 (0.92 – 1.71)	0.63 (0.46 – 0.79)
Estigma	N/A	2.68 (1.68 – 3.45)	N/A	N/A
Polen	N/A	4.87 (3.45 – 7.07)	N/A	N/A
Planta completa	1.15 (0.76 – 1.56)	1.28 (1.18 – 1.32)	1.60 (0.96 – 2.21)	1.22 (1.11 – 1.35)

Las concentraciones se presentan en base al tejido fresco. Todos los resultados de ELISA han sido modificados por la eficiencia del método de extracción utilizado. La concentración de PMI en tejidos de plantas control son todas <LOD ó <LOQ.

^a No todos los tejidos son analizados en todos los estadios de crecimiento.

LOD: Límite de detección

LOQ: Límite de cuantificación

FUENTE: Información remitida por el solicitante en el Expediente 507624/07



4. Estabilidad fenotípica y genética

4.1. Los estudios de segregación del maíz GM MIR162 muestran que las características fenotípicas que se expresan debido a la introducción del gen principal (*vip3Aa20*) y el gen acompañante (*pmi*) segregan de acuerdo a las leyes mendelianas como un solo *locus*.

5. Patogenicidad para otros organismos

5.1. El maíz es reconocido como una planta no patógena para otros organismos, y esta característica no se encuentra alterada en el maíz GM MIR162.

5.2. Si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en el maíz GM MIR162 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 MIR162 en forma comparativa con el maíz isogénico convencional y con maíces híbridos comerciales de referencia mostraron que las características del maíz GM MIR162 no alteraron la susceptibilidad a enfermedades y a factores de estreses abióticos en comparación con el maíz convencional.

7. Potencial tóxico o alergénico

Las comparaciones de las secuencias de aminoácidos de las proteínas nuevas expresadas en el maíz MIR162, 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 Vip3Aa20 y Pmi en mamíferos. Estas proteínas son rápidamente degradadas en el fluido gástrico simulado y no presentan identidad de secuencias de aminoácidos con proteínas tóxicas conocidas. Los estudios de toxicidad aguda en ratones muestran ausencia de efectos tóxicos de estas proteínas.

Las referencias bibliográficas remitidas por la empresa sugieren que la proteína insecticida (Vip3Aa20) presente en el evento MIR162 no es activa sobre los siguientes organismos no blanco: *Aleochara bilineata*, *Apis mellifera*, *Orius insidiosus*, *Folsomia candida*, *Chrisoperla carnea*, *Coccinella septempunctata* y *Eisenia foetida*.

8. Composición centesimal del OVG

Las comparaciones de la composición, tanto en forraje como en grano, del maíz GM MIR162, con el control de maíz convencional y con varios híbridos de referencia, indicaron que el forraje y el grano provenientes del maíz GM MIR162 presentan composiciones equivalentes al forraje y al grano provenientes del maíz no GM.



9. Recomendación

En función de las características del evento MIR162, y subsecuente a la eventual obtención de la autorización para su comercialización, se recomienda que se implemente un plan de prevención y manejo de la resistencia a la proteína del evento en los insectos.