

## SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

**Maíz genéticamente modificado que contiene el evento MON-88017-3 (MON 88017) el cual confiere resistencia a insectos Coleópteros y tolerancia al herbicida glifosato, presentado por la empresa Monsanto Argentina S.A.I.C.**

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) y de la Dirección de Biotecnología recomiendan dar por concluida satisfactoriamente la gestión de la Segunda Fase de Evaluación del maíz genéticamente modificado (GM) MON 88017, atendiendo a que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación del 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.

Este maíz GM contiene el evento de transformación denominado MON 88017 y fue obtenido por transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Este maíz ha sido ensayado desde 2004 hasta 2009 a campo en Argentina y para tal fin fueron solicitados y evaluados por la CONABIA 40 (cuarenta) 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 incluye al maíz GM MON 88017 y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material 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: MON-88017-3 (MON 88017).
3. Modificaciones introducidas:
  - Resistencia a insectos Coleópteros y tolerancia al herbicida glifosato (cry3Bb1 modificado y CP4-epsps).
- 3.1. Genes expresados en la planta:

3.1.1. El gen *cp4 epsps* codifica para la proteína CP4 EPSPS derivada de *Agrobacterium* sp. cepa CP4 que confiere tolerancia al herbicida glifosato. La expresión del gen está controlada por el promotor de actina de arroz.

3.1.2. El gen *cry3Bb1* modificado codifica para una variante sintética de proteína Cry3Bb1 derivada de *Bacillus thuringiensis* (*subsp. Kumamotoensis*) que confiere resistencia a ciertos insectos Coleópteros plagas. La expresión del gen se encuentra regulada por el promotor del transcripto 35S del Virus del Mosaico del Coliflor (CaMV) conteniendo la región potenciadora duplicada (p-e35S).

3.1.3. Ambos genes *cp4 epsps* y *cry3Bb1* modificado se encuentran formando parte de un solo inserto, el cual se comporta como un locus único.

### 3.2. Otros elementos:

3.2.1. El gen *cp4 epsps* se encuentra río arriba del promotor y el primer intrón *Ract 1* derivado del gen de la actina de arroz y de la secuencia codificante de la región N terminal del péptido de tránsito al cloroplasto (CTP2) derivado de *Arabidopsis thaliana*. La señal de poliadenilación del gen esta dada por la región 3' no traducida del gen *nos* de la nopalina sintetasa de *Agrobacterium tumefaciens* la cual actúa como señal de poliadenilación del ARN mensajero.

3.2.2. La secuencia codificante del gen *cry3Bb1* modificado se encuentra río arriba de la región 5' no traducida del líder de la proteína de unión a la clorofila a/b de trigo (L-Cab) y el primer intrón *Ract 1* derivado del gen de la actina de arroz. La región 3' no traducida derivada de la proteína de golpe de calor (Hsp 17.3) de trigo es utilizada como señal de terminación de la transcripción del gen y dirige la poliadenilación del ARN mensajero.

3.2.3. El inserto del maíz GM MON 88017 posee un borde derecho y un borde izquierdo en sendos extremos de inserción adyacentes a las secuencias flanqueantes del maíz.

### 3.3. Integridad del inserto y número de copias:

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*.

### 3.4. Detección del evento:

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 MON 88017 no tiene mayor capacidad que sus homólogos convencionales de sobrevivir como maleza sin asistencia humana. La presencia de los genes cuya expresión determinan los fenotipos de resistencia a insectos Coleópteros y de tolerancia al herbicida glifosato, confieren una ventaja selectiva al maíz GM MON 88017 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 MON 88017 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 MON 88017.

2.3. Las características de este maíz GM MON 88017, 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 realizar esta afirmación 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.

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

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

Los niveles de expresión de los genes introducidos en el evento se han determinado en diferentes tejidos y estadios de crecimiento del ciclo del cultivo.

## Niveles de expresión de las proteínas Cry3Bb1 y CP4 EPSPS en grano de maíz GM MON 88017 tomados de ensayos de campo en 4 localidades de Argentina en 2002-2003

Proteína	Medio (SD) ( $\mu\text{g/g fwt}$ ) <sup>3</sup>	Rango	Medio (SD) ( $\mu\text{g/g dwt}$ ) <sup>3</sup>	Rango	LOD ( $\mu\text{g/g fwt}$ )
CP4 EPSPS	4.0 (1.1)	3.2 -6.5	4.6 (1.3)	3.5 - 7.5	0.16
Cry3 Bb1	9.4 (2.7)	6.9 - 16	11 (3.3)	8.0 - 19	0.0066

1. Los niveles de proteína se expresan en microgramos ( $\mu\text{g}$ ) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las 4 localidades (n=12)
2. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las 4 localidades.
3. Los niveles de proteína se expresan en  $\mu\text{g/g}$  de peso seco (dwt) Los valores de peso seco se calcularon mediante la división del fwt y los factores de conversión a peso seco obtenidos de análisis de datos de humedad.
- 4.) El límite de cuantificación (LOQ) para el ELISA para CP4 EPSPS fue de  $0.23 \mu\text{g/g fwt}$
- 5.) El límite de cuantificación (LOQ) para el ELISA para Cry3Bb1 fue de  $0.35 \mu\text{g/g fwt}$
- 6.) LOD: Límite de detección

Fuente: Información remitida por el solicitante en el Expediente S01:433135/08

### 4. Estabilidad fenotípica y genética

4.1. Los análisis genéticos indican un comportamiento mendeliano normal, similar al de los genes ya presentes en la planta.

4.2. Los resultados de los ensayos demostraron que no hubo diferencias en el comportamiento a campo del maíz conteniendo este evento con respecto a 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 por lo tanto no se esperan interacciones entre ellos. La estabilidad del evento, los niveles de expresión de las proteínas, la especificidad de la proteína insecticida y el comportamiento agronómico del maíz conteniendo el evento, no revelan que pueda haber una interacción entre los mecanismos de acción de los dos genes del evento.

### 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 GM MON 88017.

5.2. Si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en el maíz GM MON 88017 provienen de fitopatógenos (el promotor y la señal de poliadenilación del transcrito 35S del CaMV y la señal de terminación de transcripción del gen *nos* originario de *Agrobacterium tumefaciens*), no se encuentran presentes en el evento 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 Cry3Bb1 y CP4 EPSPS en mamíferos. Estas proteínas son rápidamente degradadas en el fluido gástrico simulado y no presentan identidad 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**

Observaciones de las respuestas a factores bióticos y abióticos del maíz GM MON 88017 en forma comparativa con el maíz isogénico convencional y con maíces híbridos comerciales de referencia mostraron que las características introducidas en el maíz GM MON 88017 no alteraron la susceptibilidad a enfermedades y factores abióticos en comparación con el maíz convencional.

Tampoco se observaron efectos adversos sobre los insectos no blanco en los ensayos a campo realizados para tal fin.

## **7. Potencial para producir efectos negativos sobre humanos**

La comparación de las secuencias de aminoácidos de las proteínas nuevas expresadas en el maíz GM MON 88017, con las secuencias conocidas de proteínas tóxicas o alergénicas, no muestra identidad que permita 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 el maíz GM MON 88017.

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

La comparación de la composición tanto en forraje como en grano del maíz GM MON 88017 con el control de maíz convencional y varios híbridos de referencia sembrados en los ensayos realizados en múltiples áreas geográficas y durante múltiples campañas, indicaron que el forraje y el grano provenientes del maíz GM MON 88017 son composicionalmente equivalentes al forraje y al grano provenientes del maíz no GM.

## **9. Recomendación**

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