



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

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Maíz genéticamente modificado MON-89034-3xMON-00603-6 (OECD), aquí denominado MON89034 x NK603, que contiene la acumulación de eventos MON 89034 y NK603 los cuales confieren resistencia a insectos Lepidópteros plaga 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 completada la gestión de la Segunda Fase de Evaluación del maíz genéticamente modificado (GM) MON 89034 x NK603, 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.

Este maíz GM contiene la acumulación de los eventos de transformación individualmente denominados MON 89034 y NK603 y fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales conteniendo cada uno de los eventos de transformación en forma separada. MON 89034 fue obtenido por transformación con *Agrobacterium tumefaciens* cepa ABI, mientras que NK603 fue obtenido por transformación mediada por aceleración de partículas. El maíz MON 89034 x NK603 ha sido ensayado a campo en Argentina desde 2004 hasta 2010 y para tal fin fueron solicitados y evaluados por la CONABIA OCHO (8) 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 MON 89034 x NK603 conteniendo solamente la acumulación de eventos MON 89034 y NK603 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: MON89034 x NK603

3. Modificaciones introducidas: Resistencia a insectos Lepidópteros plaga tales como el barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*), el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), la isoca de la espiga (*Heliothis zea* ó *Helicoverpa zea*), la oruga grasienta (*Agrotis ipsilon*), el barrenador europeo del maíz (*Ostrinia nubilalis*) y el barrenador del sudoeste (*Diatraea grandiosilla*) conferida por los genes *cry1A.105* y *cry2Ab2*, aportados por el evento MON 89034 y tolerancia al herbicida glifosato conferida por el gen *cp4-epsps*, aportado por el evento NK603.



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

3.1. Secuencias introducidas en el evento MON 89034

3.1.1. Genes principales: *cry1A.105* y *cry2Ab2*

3.1.1.1. El gen *cry1A.105* codifica para una proteína quimérica denominada Cry1A.105 de tipo Cry1A la cual fue obtenida por intercambio de dominios a partir de las proteínas Cry1Ac, Cry1Ab y Cry1F, provenientes de *Bacillus thuringiensis*, subsp. *kurstaki* las dos primeras, y *B. thuringiensis*, subsp. *aizawai* la tercera. Esta proteína confiere resistencia a insectos Lepidópteros plaga.

3.1.1.2. El gen *cry2Ab2* codifica para la proteína Cry2Ab2 derivada de *B. thuringiensis*, subsp. *kurstaki*. Esta proteína confiere resistencia a insectos Lepidópteros plaga.

3.1.2. Otros elementos

3.1.2.1. El promotor modificado del transcripto 35S del Virus del Mosaico del Coliflor (CaMV) controla la expresión del gen *cry1A.105*. Hacia el extremo 3' del promotor se encuentra la secuencia 5' no traducida del líder de la proteína de unión a la clorofila a/b de trigo y el intrón Ract 1 derivado del gen de la actina de arroz. La región 3' del gen que codifica para la proteína de golpe de calor (Hsp 17.3) de trigo fue utilizada como señal de terminación de la transcripción del gen y dirige la poliadenilación del ARN mensajero.

3.1.2.2. El promotor del transcripto 35S del Virus del Mosaico del Figwort (FMV) controla la expresión del gen *cry2Ab2*. Hacia el extremo 3' del promotor se encuentra el primer intrón del gen de la proteína de golpe de calor (Hsp70) de *Zea mays* y las secuencias TS-SSU-CTP del péptido de tránsito al cloroplasto y el primer intrón del gen de la subunidad menor de la enzima RUBISCO de *Zea mays*. La región 3' derivada del gen *nos* de *A. tumefaciens* que codifica para la nopalina sintasa es utilizada como señal de terminación de la transcripción del gen y dirige la poliadenilación del ARN mensajero.

3.1.3. Bordes

El inserto del maíz GM MON 89034 posee un borde izquierdo de la región T de *A. tumefaciens* en cada uno de sus extremos adyacentes a las secuencias flanqueantes del maíz.

3.1.4. Integridad del inserto y número de copias del evento MON 89034

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



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

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 MON 89034

La presencia de este evento puede ser determinada experimentalmente mediante técnicas de detección de dominio corriente tales como ser la reacción en cadena de la polimerasa y el ensayo inmunoenzimático (PCR y ELISA de sus siglas en inglés respectivamente).

3.2. Secuencias introducidas en el evento NK603

3.2.1. Genes principales: *cp4 epsps*

Contiene dos copias del gen *cp4 epsps* derivado de *A. tumefaciens*, cepa CP4 el cual codifica para la proteína CP4 EPSPS (5-enolpiruvilshiquimato 3-fosfato sintetasa) los cuales confieren tolerancia al herbicida glifosato.

3.2.2. Otros elementos del evento NK603

3.2.2.1 El promotor Ract1 del gen de la actina del arroz (*Oryza sativa*) regula la expresión de la primera copia del gen *cp4 epsps*. Hacia el extremo 3' del promotor se encuentra el intrón Ract1 y a continuación de este se encuentra la secuencia codificante de la región N terminal del péptido de tránsito al cloroplasto (CTP2) derivado de *Arabidopsis thaliana*. La región 3' no traducida del gen *nos* de la nopalina sintasa de *A. tumefaciens* actúa como señal de poliadenilación del ARN mensajero.

3.2.2.2. El promotor del transcripto 35S del Virus del Mosaico del Coliflor (CaMV) con la región potenciadora duplicada (e35S) regula la expresión de la segunda copia del gen *cp4 epsps*. Hacia el extremo 3' del promotor se encuentra la secuencia Zmhsp70 correspondiente al intrón del gen de la proteína de golpe de calor (Hsp70), proveniente de *Zea mays L.* A continuación de éste se encuentra la secuencia codificante de la región N terminal del péptido de tránsito al cloroplasto (CTP2) derivado de *A. thaliana*. La región 3' no traducida del gen *nos* de la nopalina sintasa de *A. tumefaciens* actúa como señal de poliadenilación del ARN mensajero.

3.2.3. Integridad del inserto y número de copias del evento NK603

Ambos copias del gen *cp4 epsps* se encuentran formando parte de un solo inserto, el cual se comporta como un locus único.



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

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.

3.2.4. Detección del evento NK603

La presencia de este evento puede ser determinada experimentalmente mediante técnicas de detección de dominio corriente tales como ser la reacción en cadena de la polimerasa y el ensayo inmunoenzimático (PCR y ELISA de sus siglas en inglés respectivamente).

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Comparado con el maíz convencional, el maíz MON 89034 x NK603 no tiene mayor capacidad que sus homólogos convencionales de sobrevivir sin asistencia humana y/o adquirir características de maleza. La presencia de los genes cuya expresión determinan los fenotipos de resistencia a insectos Lepidópteros plaga y de tolerancia al herbicida glifosato, confieren una ventaja selectiva al maíz MON 89034 x NK603 cuando se lo expone al herbicida arriba mencionado, y en presencia de los insectos objetivo, 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 MON 89034 x NK603, 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 MON 89034 x NK603.

2.3. Las características del maíz MON 89034 x NK603, 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

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



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

Los niveles de expresión de los genes introducidos en esta acumulación de eventos no son diferentes a los niveles de expresión que esos genes tienen en sus líneas parentales derivadas de los eventos MON 89034 y NK603. Las determinaciones de los niveles de expresión se han realizado en diferentes tejidos y estadios de crecimiento del ciclo del cultivo.

Tabla 1: Resumen de los niveles de proteína Cry1A.105 en tejidos de hojas colectadas de MON89034 × NK603 y MON89034 producido en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		MON 89034	
	Media(SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
OSL-1	31 (11) 11 – 50	220 (91) 62 – 350	35 (6.5) 24 – 50	240 (59) 140 – 330
OSL-2	32 (8.7) 22 – 54	160 (30) 110 – 220	33 (7.7) 23 – 51	160 (30) 120 – 210
OSL-3	40 (12) 21 – 64	190 (58) 110 – 300	42 (11) 27 – 65	200 (45) 130 – 280
OSL-4	41 (7.9) 32 – 56	170 (30) 150 – 240	41 (7.7) 27 – 54	170 (29) 130 – 220

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento (Ritchie *et al.*, 1997).

a. OSL-1: V2 – V4 c. OSL-3: V10 – V12

b. OSL-2: V6 – V8 d. OSL-4: pre-VT

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15)

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 2: Resumen de los niveles de proteína Cry1A.105 en tejidos de raíz de maíz MON89034 × NK603 y MON89034 producidos en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		MON 89034	
	Media(SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
OSR-1	7.9 (1.5) 5.3 – 10	66 (11) 48 – 83	7.0 (1.6) 4.3 – 9.8	57 (10) 35 – 78
OSR-2	6.2 (0.91) 5.0 – 8.0	40 (4.4) 33 – 49	7.1 (1.2) 5.1 – 10	47 (10) 35 – 68
OSR-3	4.6 (0.88) 3.1 – 6.5	32 (4.9) 20 – 40	4.1 (0.88) 3.0 – 5.7	28 (3.9) 23 – 36
OSR-4	5.2 (0.94) 3.3 – 6.7	34 (3.2) 30 – 40	4.2 (0.90) 2.7 – 6.0	28 (3.7) 24 – 34
Raíz-Forraje	4.3 (1.3) 3.0 – 7.9	24 (4.1) 19 – 34	5.2 (1.0) 4.2 – 7.2	29 (3.1) 23 – 34
Raíz Senescente	3.8 (0.76) 2.9 – 5.5	20 (3.3) 14 – 26	4.5 (0.83) 3.4 – 6.5	24 (4.6) 18 – 32

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento (Ritchie *et al.*, 1997).

a. OSR-1: V2 – V4 c. OSR-3: V10 – V12 e Raíz-forraje: Dentado temprano

b. OSR-2: V6 – V8 d. OSR-4: pre-VT f. Raíz Senescente: Post cosecha

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15), excepto para OSR-2, n=16)

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 3: Resumen de los niveles de proteína Cry1A.105 en planta completa, forraje y rastrojo de maíz MON89034 × NK603 y MON89034 producidos en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		MON 89034	
	Media(SD) ²	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)
	Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Rango (µg/g dwt) ⁵	Rango (µg/g fwt)	Rango (µg/g dwt)
OSWP-1	16 (4.7)	160 (39)	17 (3.9)	170 (51)
	9.5 – 25	97 – 230	11 – 23	78 – 250
OSWP-2	10 (2.1)	95 (17)	5.3 (0.78)	51 (9.2)
	5.9 – 13	59 – 120	4.0 – 6.5	33 – 65
OSWP-3	9.4 (2.2)	83 (25)	6.9 (4.0)	61 (35)
	6.2 – 14	57 – 140	3.2 – 16	27 – 140
OSWP-4	9.6 (1.4)	78 (12)	9.9 (3.0)	81 (25)
	7.3 – 12	61 – 100	4.6 – 17	39 – 140
Forraje	8.4 (2.5)	30 (8.7)	9.0 (2.1)	31 (6.6)
	2.9 – 12	10 – 44	5.6 – 13	21 – 42
Rastrojo	6.9 (1.6)	22 (3.4)	6.2 (1.9)	20 (4.6)
	4.5 – 11	16 – 29	4.0 – 9.9	10 – 26

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento (Ritchie *et al.*, 1997).

a. OSWP-1: V2 – V4 c. OSWP-3: V10 – V12 e. Forraje: dentado temprano

b. OSWP-2: V6 – V8 d. OSWP-4: pre-VT f. Rastrojo: postcosecha

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15)

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 4: Resumen de los niveles de proteína Cry1A.105 en estigmas, polen y granos de MON89034 × NK603 y MON89034 producidos en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		MON 89034	
	Media (SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
Estigma	2.3 (0.50) 1.2 – 3.2	27 (9.0) 13 – 46	2.9 (0.46) 2.1 – 4.1	34 (8.8) 23 – 59
Polen	7.0 (1.2) 5.3 – 9.5	9.6 (1.4) 8.0 – 12	6.0 (0.52) 5.2 – 6.8	8.4 (0.69) 6.7 – 9.3
Grano	2.6 (0.36) 2.3 – 3.7	3.1 (0.41) 2.6 – 4.3	2.2 (0.44) 1.5 – 3.4	2.6 (0.52) 1.7 – 3.9

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento:
 - a. Estigmas: en emisión de polen
 - b. Polen: en emisión de polen
 - c. Grano: a madurez fisiológica
2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15)
3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.
4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.
5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 5: Resumen de los niveles de proteína Cry2Ab2 en tejidos foliares de MON89034 × NK603 y MON89034 producidos en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		MON 89034	
	Media(SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
OSL-1	20 (6.9) 4.9 – 31	140 (48) 27 – 200	15 (3.8) 10 – 27	110 (31) 60 – 180
OSL-2	28 (9.7) 15 – 53	140 (48) 77 – 280	27 (5.0) 17 – 38	140 (23) 87 – 170
OSL-3	44 (11) 24 – 67	210 (49) 130 – 290	46 (7.9) 35 – 59	220 (40) 150 – 270
OSL-4	60 (31) 33 – 120	250 (120) 120 – 510	64 (22) 40 – 120	270 (76) 150 – 460

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento (Ritchie *et al.*, 1997).

c. OSL-1: V2 – V4 c. OSL-3: V10 – V12

d. OSL-2: V6 – V8 d. OSL-4: pre-VT

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15, excepto OSL-1 de MON 89034, n=16 and OSL-3 de MON 89034 x NK603)

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 6: Resumen de los niveles de proteína Cry2Ab2 en raíz de maíz MON89034 × NK603 y MON89034 producidos en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		MON 89034	
	Media(SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
OSR-1	4.4 (2.0) 2.3 – 8.0	37 (18) 19 – 70	5.7 (1.5) 2.5 – 7.6	48 (11) 23 – 63
OSR-2	6.9 (2.8) 3.2 – 12	44 (16) 24 – 81	5.5 (2.5) 2.7 – 11	35 (12) 20 – 60
OSR-3	2.5 (0.38) 1.5 – 3.0	17 (2.9) 11 – 23	3.3 (0.88) 2.0 – 4.9	22 (5.4) 13 – 31
OSR-4	4.0 (1.1) 2.6 – 6.4	26 (4.3) 17 – 32	4.3 (1.2) 2.6 – 6.5	28 (5.4) 21 – 37
Raíz de forraje	5.1 (2.4) 2.5 – 11	27 (9.6) 15 – 47	5.7 (1.9) 3.6 – 9.7	31 (6.0) 23 – 42
Raíz senescente	1.8 (1.9) 0.77 – 8.5	9.3 (8.1) 4.2 – 37	2.1 (1.1) 0.93 – 5.3	12 (6.8) 4.9 – 31

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento (Ritchie *et al.*, 1997).

a. OSR-1: V2 – V4 c. OSR-3: V10 – V12 e Raíz-forraje: Dentado temprano

b. OSR-2: V6 – V8 d. OSR-4: pre-VT f. Raíz Senescente: Post cosecha

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15).

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 7: Resumen de los niveles de proteína Cry2Ab2 en planta completa, forraje y rastrojo de maíz MON89034 × NK603 y MON89034 producidos en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		MON 89034	
	Media(SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
OSWP-1	7.1 (3.1) 2.9 – 16	72 (41) 27 – 200	8.0 (1.9) 4.5 – 11	80 (25) 41 – 140
OSWP-2	6.1 (1.2) 4.0 – 8.7	58 (10) 40 – 79	11 (1.7) 7.5 – 14	99 (9.9) 75 – 120
OSWP-3	4.1 (1.2) 2.6 – 7.7	36 (10) 21 – 70	5.6 (1.3) 3.5 – 8.4	49 (12) 35 – 76
OSWP-4	10 (2.4) 6.7 – 14	85 (19) 55 – 120	9.5 (1.8) 6.0 – 14	78 (15) 50 – 110
Forraje	9.3 (2.8) 4.7 – 15	33 (10) 17 – 53	12 (2.5) 8.5 – 17	40 (7.3) 30 – 54
Rastrojo	14 (3.6) 8.6 – 19	44 (11) 32 – 66	13 (3.6) 5.5 – 19	44 (14) 13 – 62

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento (Ritchie *et al.*, 1997).

a. OSWP-1: V2 – V4 c. OSWP-3: V10 – V12 e. Forraje: dentado temprano

b. OSWP-2: V6 – V8 d. OSWP-4: pre-VT f. Rastrojo: postcosecha

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15)

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 8: Resumen de los niveles de proteína Cry2Ab2 en estigma, polen y grano de maíz MON89034 × NK603 y MON89034 producidos en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		MON 89034	
	Media(SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
Estigma	2.8 (0.59) 1.6 – 4.0	32 (7.0) 18 – 45	5.2 (1.3) 2.6 – 6.7	62 (18) 29 – 83
Polen	0.48 (0.14) 0.36 – 0.86	0.66 (0.18) 0.46 – 1.1	0.43 (0.10) 0.25 – 0.65	0.60 (0.12) 0.38 – 0.83
Grano	1.0 (0.15) 0.80 – 1.3	1.2 (0.18) 0.92 – 1.5	0.85 (0.15) 0.60 – 1.2	1.0 (0.18) 0.69 – 1.4

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento:
 - a. Estigmas: en emisión de polen
 - b. Polen: en emisión de polen
 - c. Grano: a madurez fisiológica
2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15)
3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.
4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.
5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 9: Resumen de los niveles de proteína CP4 EPSPS en tejidos foliares MON89034 × NK603 y NK603 producidos en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

	MON 89034 × NK603		NK603	
Tipo de tejido ¹	Media (SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
OSL-1	34 (7.0) 18 – 44	240 (66) 100 – 340	31 (2.9) 28 – 38	220 (38) 160 – 290
OSL-2	42 (11) 25 – 70	210 (41) 140 – 290	41 (8.5) 29 – 59	210 (45) 120 – 310
OSL-3	44 (10) 35 – 68	210 (43) 150 – 300	42 (6.7) 30 – 56	200 (33) 130 – 260
OSL-4	55 (11) 42 – 80	230 (49) 180 – 350	50 (11) 35 – 70	210 (47) 150 – 310

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento (Ritchie *et al.*, 1997).

e. OSL-1: V2 – V4 c. OSL-3: V10 – V12

f. OSL-2: V6 – V8 d. OSL-4: pre-VT

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15)

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 10: Resumen de los niveles de proteína CP4 EPSPS en tejidos de raíz de MON89034 × NK603 y NK603 producidos en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

	MON 89034 × NK603		NK603	
Tipo de tejido ¹	Media(SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
OSR-1	9.4 (3.1) 6.1 – 18	78 (22) 52 – 140	12 (4.5) 5.3 – 19	97 (31) 44 – 150
OSR-2	9.6 (2.5) 6.1 – 14	62 (15) 40 – 97	11 (2.8) 4.3 – 16	73 (15) 29 – 88
OSR-3	13 (5.2) 5.0 – 22	84 (30) 39 – 140	10 (3.1) 2.8 – 17	70 (20) 17 – 110
OSR-4	8.2 (2.9) 4.8 – 14	54 (16) 32 – 92	12 (4.4) 6.1 – 20	78 (24) 41 – 130
Raíz-Forraje	8.6 (2.2) 5.9 – 13	48 (9.7) 36 – 70	8.5 (3.3) 4.1 – 17	47 (14) 24 – 72
Raíz Senescente	7.5 (2.4) 3.6 – 11	40 (14) 16 – 69	5.2 (2.2) 2.4 – 9.4	29 (16) 10 – 59

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento (Ritchie *et al.*, 1997).

a. OSR-1: V2 – V4 c. OSR-3: V10 – V12 e. Raíz-forraje: Dentado temprano

b. OSR-2: V6 – V8 d. OSR-4: pre-VT f. Raíz Senescente: Post cosecha

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15).

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C..



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

Tabla 11: Resumen de los niveles de proteína CP4 EPSPS en planta completa, forraje y rastrojo de maíz MON89034 × NK603 y NK603 producidos en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		NK603	
	Media (SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
OSWP-1	21 (4.3) 14 – 30	210 (47) 130 – 290	20 (3.5) 13 – 27	190 (49) 110 – 270
OSWP-2	18 (2.5) 14 – 23	170 (23) 140 – 230	19 (5.3) 12 – 30	180 (45) 120 – 270
OSWP-3	18 (2.8) 12 – 24	160 (28) 100 – 220	17 (2.5) 14 – 23	150 (23) 120 – 190
OSWP-4	20 (2.9) 16 – 24	160 (25) 120 – 200	20 (4.6) 14 – 31	160 (38) 120 – 260
Forraje	21 (4.3) 16 – 31	74 (13) 54 – 100	18 (4.5) 11 – 28	63 (14) 40 – 87
Rastrojo	16 (3.2) 10 – 23	51 (9.8) 32 – 66	13 (2.2) 8.4 – 16	41 (7.9) 29 – 56

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento (Ritchie *et al.*, 1997).

a. OSWP-1: V2 – V4 c. OSWP-3: V10 – V12 e. Forraje: dentado temprano

b. OSWP-2: V6 – V8 d. OSWP-4: pre-VT f. Rastrojo: postcosecha

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15)

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

Tabla 12: Resumen de los niveles de proteína CP4 EPSPS en polen y grano de maíz MON89034 × NK603 y NK603 producidos en ensayos de campo en Argentina durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de tejido ¹	MON 89034 × NK603		NK603	
	Media (SD) ² Rango ³ (µg/g fwt) ⁴	Media (SD) Rango (µg/g dwt) ⁵	Media (SD) Rango (µg/g fwt)	Media (SD) Rango (µg/g dwt)
Polen	280 (99) 140 – 450	390 (140) 180 – 610	230 (53) 150 – 340	320 (69) 220 – 440
Grano	7.0 (1.4) 5.0 – 9.7	8.1 (1.6) 5.8 – 11	5.8 (1.6) 3.7 – 8.2	6.7 (1.8) 4.3 – 9.5

1. Los tejidos fueron tomados en las siguientes etapas de crecimiento:

a. Grano: en madurez fisiológica

b. Polen: en emisión de polen

2. La media y la desviación estándar fueron calculadas entre las localidades (n=15)

3. Los valores mínimos y máximos fueron determinados para cada tipo de tejido a través de las localidades.

4. Los niveles de proteína se expresan en microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en peso (fwt) fresco.

5. Los niveles de proteína se expresan en µg/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.

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C..

Tabla 13: Límites de detección por ELISA y cuantificación de las proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2 y CP4 EPSPS. Ensayos a campo durante la campaña agrícola 2004-2005.

Tipo de Tejido	Cry1A.105		Cry2Ab2		CP4 EPSPS	
	LOD ¹ (µg/g fw)	LOQ ² (µg/g fw)	LOD ¹ (µg/g fw)	LOQ ² (µg/g fw)	LOD ¹ (µg/g fw)	LOQ ² (µg/g fw)
Forraje	0.372	0.44	0.191	0.44	0.069	0.138
Hoja	0.568	0.66	0.081	0.44	0.069	0.138
Polen	0.412	1.1	0.055	0.11	0.099	0.138
Raíz	0.254	0.33	0.056	0.22	0.033	0.069
Estigma	0.275	0.44	0.04	0.22	ND	ND
Grano	0.262	1.1	0.123	0.22	0.155	0.23

¹ El límite de detección (LOD) fue calculado como el valor de la media mas tres SD utilizando los datos generados con las muestras de los materiales convencionales para cada uno de los tejidos. El valor LOD en "ng/ml" fue convertido a "µg/g fw" usando el respectivo factor de dilución.

² El límite de cuantificación (LOQ) fue calculado basado en la más baja concentración estándar. El valor "ng/ml" fue convertido a "µg/g fw" usando el respectivo factor de dilución.

ND = no determinado

Fuente: Monsanto Argentina S.A.I.C.



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

4. Estabilidad fenotípica y genética

4.1. Los estudios de segregación del maíz MON 89034 x NK603 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 al análisis de la información de la que se dispone sobre la acumulación de estos eventos no se espera una diferencia en el comportamiento a campo del maíz conteniendo esta acumulación de eventos con respecto a su contraparte no GM. Los mecanismos de acción y las rutas metabólicas de cada uno de los genes introducidos son independientes y por lo tanto no se esperan 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 MON 89034 y NK603, no revelan interacciones entre los mecanismos de acción de los fenotipos de los eventos simples.

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 MON 89034 x NK603.

5.2. Si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en el maíz que contiene la acumulación de eventos MON 89034 y NK603 provienen de fitopatógenos (el promotor del transcripto 35S del CaMV, la señal de terminación de transcripción del gen *nos* y las secuencias de los bordes de la región T, originarios de *A. tumefaciens*, y el promotor del transcripto 35S del Virus del Mosaico del Figwort), no se encuentran presentes en dichos eventos los genes que confieren las correspondientes características patogénicas en los organismos de los que provienen, careciendo por lo tanto esta acumulación de eventos de riesgos de patogenicidad producidos por estos elementos.

6. Potencial para producir impactos en el agroecosistema

Observaciones de las respuestas a factores bióticos y abióticos del maíz MON 89034 x NK603 en forma comparativa con el maíz isogénico convencional y con maíces híbridos comerciales de referencia mostraron que las características acumuladas en el maíz MON 89034 x NK603 no alteraron la susceptibilidad a enfermedades y a factores de estreses abióticos en comparación con el maíz convencional.

Tampoco se observaron efectos adversos sobre los insectos no blanco en los ensayos a campo.

7. Potencial tóxico o alergénico

Las comparaciones de las secuencias de aminoácidos de las proteínas nuevas expresadas en el maíz MON 89034 x NK603, con las secuencias de proteínas tóxicas o alergénicas conocidas, no muestran niveles de identidad que permitan indicar posibles efectos tóxicos o alergénicos.



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

No son esperables efectos de toxicidad de las proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2 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 conocidas. Los estudios de toxicidad aguda en ratones 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 MON 89034 x NK603, con el control de maíz convencional y con varios híbridos de referencia, indicaron que el forraje y el grano provenientes del maíz MON 89034 x NK603 presentan composiciones equivalentes al forraje y al grano provenientes del maíz no GM.

9. Recomendación

En función de las características de los eventos, 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 generación de resistencia en malezas e insectos.