

SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN

Maíz genéticamente modificado 1507xNK603 que contiene la acumulación de eventos TC1507 y NK603, los cuales confieren resistencia a insectos Lepidópteros y tolerancia a los herbicidas glufosinato de amonio (TC1507) y glifosato (NK603), presentado en forma conjunta por las empresas Pioneer Argentina S.R.L. y Dow AgroSciences Argentina 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) recomiendan dar por concluida satisfactoriamente la gestión de la segunda fase de evaluación del maíz genéticamente modificado (GM) 1507xNK603, debido a que los riesgos de bioseguridad derivados del cultivo en gran escala de dicho organismo vegetal genéticamente modificado (OVGM), para los agroecosistemas en que se desarrolla el cultivo de maíz, 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 TC1507 y NK603 y fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales conteniendo cada uno de ellos los eventos de transformación en forma separada. Este maíz ha sido ensayado a campo en Argentina y para tal fin fueron solicitados ante la SAGPyA y evaluados por la CONABIA trece (13) 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°122518/03 121171/04; 209801/05; 216955/05; 277792/05; 215848/06; 251390/06; 243977/06 249177/07; 283053/07; 414388/07; 476076/07 y 442634/07.

El presente Documento de Decisión incluye al maíz GM 1507xNK603 conteniendo solamente la acumulación de eventos TC1507 y NK603, 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: 1507xNK603. Acumulación de los eventos TC1507 y NK603.

3. Modificaciones introducidas:

Resistencia a insectos Lepidópteros y tolerancia al herbicida glufosinato de amonio (TC1507) y tolerancia al herbicida glifosato (NK603).

Para TC1507

3.1. Genes expresados en la planta:

3.1.1. El gen *cry1F* (truncado) proveniente de la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*, el cual codifica para una forma truncada de la proteína Cry1F que confiere resistencia a insectos Lepidópteros.

3.1.2. El gen *pat* proveniente de la bacteria *Streptomyces viridochromogenes*, que codifica para la enzima fosfotricina-acetil transferasa, el cual confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio.

3.1.3. Estos genes se encuentran formando parte de un solo inserto, que se comporta como un único locus, constituido por dos *cassettes*, con los genes indicados arriba. La expresión de cada uno de estos genes está controlada por sendos promotores: el correspondiente al primer gen (*cry1F*) es el promotor del gen de ubiquitina, con su intrón y una región 5' no traducida (*ubiZM1*) proveniente de maíz, y el correspondiente al segundo gen (*pat*) es el promotor del transcripto 35S del virus del mosaico del coliflor (CaMV35S).

3.2. Otros elementos:

3.2.1. *ORF25PolyA*: Terminador de la transcripción proveniente de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, asociado al gen *cry1F*.

3.2.2. *CaMV35S*: Terminador de la transcripción proveniente del transcripto 35S del CaMV35S, para el gen *pat*.

3.3. Integridad del inserto:

La integridad del inserto ha sido verificada experimentalmente.

Para NK603

3.1. Genes expresados en la planta:

3.1.1. Dos copias en *tandem* del gen *cp4-epsps*, proveniente de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4, el cual codifica para la proteína CP4 EPSPS (la enzima 5-enolpiruvil-siquimato 3-fosfato sintetasa) que confiere tolerancia al herbicida glifosato.

3.1.2. Estas dos copias del gen se encuentran formando parte de un solo inserto, que se comporta como un único locus, constituido por dos cassettes, con los genes indicados arriba.

3.2. Otros elementos:

3.2.1. La expresión de cada uno de los genes está controlada por sendos promotores: el correspondiente a la primera copia del gen es el P-ract1/ract1 (promotor del gen de actina que contiene el primer intrón) derivado de arroz; el correspondiente a la segunda copia del gen es el e35S (promotor del transcripto 35S del CaMV35S, que contiene la región potenciadora duplicada).

3.2.2. *ctp2*: (para ambas copias del gen *cp4-epsps*) proveniente de *Arabidopsis thaliana*, que corresponde a la secuencia de ADN que expresa el péptido de tránsito al cloroplasto.

3.2.3. *Zmhsp70*: (solamente para la segunda copia del gen *cp4-epsps*) que corresponde al intrón del gen *hsp70* (proteína de golpe de calor, proveniente de maíz) presente para estabilizar el nivel de transcripción del gen principal.

3.2.4. *nos3'*: (una copia asociada a cada uno de los dos genes *cp4-epsps*) 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.

II. EVALUACION DE RIESGO

1. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación.

Comparado con el maíz convencional, el maíz GM 1507xNK603 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 a los herbicidas glufosinato de amonio y glifosato, confiere una ventaja selectiva al maíz GM 1507xNK603 cuando se lo expone a los herbicidas glufosinato de amonio y glifosato, 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 1507xNK603, la producción de polen y su viabilidad son similares a las del maíz que no ha sido modificado genéticamente. No existen en el país especies sexualmente compatibles 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 y por los estudios realizados en la acumulación de eventos no surge, hasta el momento, la existencia de fenómenos de transferencia horizontal de genes desde el maíz hacia microorganismos, vectores virales o insectos. Se considera que no existen razones para suponer que esta característica haya cambiado en el maíz GM 1507xNK603.

2.3. Las características de los insertos en el maíz GM 1507xNK603 (entendidos como los genes insertados y los correspondientes elementos genéticos para el control de su expresión), determinan que es muy poco probable que puedan transferirse genes hacia microorganismos.

2.4 La presencia de los genes introducidos en este maíz puede ser determinada mediante técnicas moleculares de dominio corriente (PCR y ELISA).

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 las proteínas Cry1F, PAT y CP4 EPSPS (ng/mg, sobre peso seco de tejido) en grano y forraje en cultivos de la línea de maíz GM 1507xNK603 y del control no GM se presentan en la tabla siguiente.

Entrada	Tratamiento	Tejido	Concentración media de proteína (ng/mg Tejido peso seco)	Desviación estándar	Rango mín/máx (ng/mg Tejido peso seco)	Cantidad de muestras ¹
Cry1F						
01	Glifosato	Grano	1,37	0,29	0,94 – 1,98	30 / 0
02	Glufosinato	Grano	1,57	0,34	0,98- 2,43	30 / 0
03	Glifosato f.b. ³ Glufosinato	Grano	1,42	0,34	0,53 – 2,17	30 / 0
03	Glifosato f.b. Glufosinato	Forraje	5,57	1,02	4,31 – 6,77	6 / 0
91	Ninguno (Control)	Grano	0	0	0 - 0	6 / 6
PAT						
01	Glifosato	Grano	0	0	0 - 0	30 / 30
02	Glufosinato	Grano	0	0	0 - 0	30 / 30
03	Glifosato f.b. Glufosinato	Grano	0	0	0 - 0	30 / 30
03	Glifosato f.b. Glufosinato	Forraje	0,58	0,07	0,48 – 0,64	6 / 0
91	Ninguno (Control)	Grano	0,02	0,04	0 – 0,09	6 / 5 ²
CP4 EPSPS						
01	Glifosato	Grano	8,25	1,42	5,62 – 11,1	30 / 0
02	Glufosinato	Grano	6,66	1,06	3,83 – 8,68	30 / 0
03	Glifosato f.b. Glufosinato	Grano	6,62	1,42	3,8 – 9,52	30 / 0
03	Glifosato f.b. Glufosinato	Forraje	62,0	8,5	49,9 - 71,6	6 / 0
91	Ninguno (Control)	Grano	0	0	0 - 0	6 / 6

¹ Cantidad de Muestras: cantidad de muestras analizadas / cantidad de muestras por debajo de la muestra (LLOQ)

² El control positivo de PAT VI02-91-1-1-G no fue positivo ni para la proteína Cry1F ni para la proteína EPSPS, lo cual sugiere esa contaminación con una única semilla con el gen *pat*.

³ F.b.: followed by (indica que se aplicó primero glifosato y posteriormente glufosinato de amonio)

3.2. En los ensayos presentados y en la literatura existente sobre especies de plagas no objetivo e insectos benéficos que frecuentan el cultivo de maíz GM 1507xNK603, no se ha observado toxicidad ni alteración de niveles poblacionales en esas especies. Se puede concluir entonces que con este nivel de exposición de los organismos presentes en el agroecosistema a las proteínas Cry1F, PAT y CP4 EPSPS, no son esperables efectos significativos de las mismas sobre estos organismos.

3.3 Los estudios de toxicidad aguda en ratones muestran ausencia de efectos tóxicos. Estas proteínas son rápidamente degradadas en el fluido gástrico simulado y no presentan homologías de secuencias de aminoácidos con

proteínas tóxicas o alergénicas conocidas. Por lo tanto, no son esperables efectos de toxicidad de las proteínas Cry1F, PAT y CP4 EPSPS en mamíferos.

4. Estabilidad fenotípica y genética.

4.1. Los ensayos del comportamiento agronómico del GM 1507xNK603 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. Los ensayos del comportamiento agronómico y las determinaciones de la composición de los tejidos de plantas de maíz GM 1507xNK603 muestran que, con respecto a estas características, no existen diferencias detectables o significativas entre este maíz, sus parentales y su homólogo convencional, fuera de las diferencias en el comportamiento agronómico y composición en tejidos conferidas por la expresión de los genes introducidos en esta acumulación.

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 TC1507 y NK603.

5.2. Si bien algunos de los elementos genéticos contenidos en el maíz que contiene la acumulación de eventos TC1507 y NK603 provienen de fitopatógenos (el promotor y la señal de poliadenilación del transcritto 35S del CaMV, y la señal de terminación de transcripción ORF25PolyA para el caso de TC1507 y la señal de terminación de transcripción del gen *nos* para NK603, ambos originarios 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.

6. Potencial para producir impactos en el agroecosistema.

Los ensayos realizados no muestran evidencias que permitan inferir que el maíz GM 1507xNK603 pueda producir impactos en nuestro agroecosistema, más allá de los que son esperables del cultivo de maíz convencional.

Las plantas de maíz GM 1507xNK603 fueron ensayadas a campo y no se observó que la interacción de estas plantas con el agroecosistema, incluidos

malezas, patógenos e insectos, sea diferente de la de su contraparte convencional.

La equivalencia del maíz GM 1507xNK603 con maíces convencionales ha sido estudiada en una serie de aspectos, que cubren desde su comportamiento agronómico a su composición bioquímica. Para el presente caso, todos los organismos vivos típicos del agroecosistema donde se cultiva normalmente el maíz se consideran no objetivo y no se han detectado interacciones del maíz GM 1507xNK603 con dichos organismos que difieran de otros maíces convencionales disponibles en el mercado. De este enfoque comparativo, es posible concluir que las características de la plantas portadoras de este evento son similares a 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 1507xNK603, 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 los eventos TC1507 y NK603.