

DOCUMENTO DE DECISIÓN EVALUACIÓN DE RIESGO SOBRE EL AGROECOSISTEMA

Maíz (*Zea mays*) genéticamente modificado (GM) MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6, que contiene la acumulación de los eventos MON-87427-7, MON-948Ø4-4 y MON-ØØ6Ø3-6. Presenta baja estatura (conferida por MON-948Ø4-4) y tolerancia al herbicida glifosato (conferida por MON-87427-7 y MON-ØØ6Ø3-6). La solicitud fue presentada por Monsanto Argentina S.R.L. El presente Documento de Decisión incluye al maíz MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier maíz no GM.

INTRODUCCIÓN

A partir del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico disponible, los suscritos, miembros de la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) y de la Coordinación de Innovación y Biotecnología (ClyB) acuerdan en dar por finalizada la evaluación de riesgo sobre el agroecosistema del maíz genéticamente modificado (GM) MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6.

El maíz GM MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6, que contiene la acumulación de los eventos de transformación MON-87427-7, MON-948Ø4-4 y MON-ØØ6Ø3-6, fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales que contienen los eventos correspondientes. Cabe mencionar que la acumulación de los eventos MON-87427-7 x MON-ØØ6Ø3-6 fue autorizada comercialmente bajo el siguiente acto administrativo, RESOL-2019-61-APN-SAYBI#MPYT como parte de la acumulación MON-87427-7 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 y que el evento MON-948Ø4-4 cuenta con Documento de Decisión favorable.

El presente Documento de Decisión incluye al maíz MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6 y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier maíz no GM.

I. CARACTERIZACIÓN DEL ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

1. Nombre común y científico: Maíz (*Zea mays*)

2. Denominación de la acumulación de eventos: MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6

3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas:

La acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6 presenta baja estatura otorgada por el producto de expresión miARN GA20ox_SUP. Además, presenta tolerancia al herbicida glifosato, otorgada por la proteína CP4 EPSPS.

Las actividades biológicas de todos los productos de expresión se comprobaron oportunamente en instancias del análisis de riesgo de los eventos parentales correspondientes.

3.1. Modo de acción del herbicida

El glifosato inhibe la enzima cloroplástica 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), la cual se encuentra involucrada en la ruta bioquímica del shikimato y compuestos derivados (aminoácidos aromáticos, entre otros). De esta manera, el tratamiento con glifosato priva a las plantas de aminoácidos esenciales y de metabolitos secundarios, como el tetrahidrofolato, la ubiquinona y la vitamina K, necesarios para el crecimiento y su normal desarrollo.

3.2. Mecanismo de acción de los productos de expresión

Los mecanismos de acción de cada uno de los productos de expresión responsables de conferir los fenotipos declarados, fueron analizados durante la evaluación de los eventos individuales, resultando en Documentos de Decisión favorables. A continuación se describen los mecanismos de acción de estos:

CP4 EPSPS confiere tolerancia al herbicida glifosato. Se expresa en los eventos MON-87427-7 y MON-ØØ6Ø3-6.

Mientras que la proteína CP4 EPSPS producida a partir del evento MON-ØØ6Ø3-6 se expresa constitutivamente en todos los tejidos de la planta, aquella generada por el evento MON-87427-7 se sintetiza en todo el vegetal a excepción de ciertos tejidos reproductivos masculinos claves para el desarrollo del polen en la planta de maíz. Como consecuencia de este patrón de expresión tejido-selectivo, en el evento individual se observa un fenotipo de androesterilidad al aplicar glifosato en estadios vegetativos tardíos (a partir de V8 y hasta V13). En la acumulación de eventos coexisten las 2 copias del gen *cp4 epsps* con ambos patrones de expresión, por lo que la proteína CP4 EPSPS sintetizada a partir de la copia de expresión constitutiva enmascara la de expresión selectiva de la otra copia. De esta forma, no se manifiesta el fenotipo de androesterilidad al aplicar el herbicida sobre dicha acumulación de eventos.

La proteína CP4 EPSPS, aportada por los eventos MON-87427-7 y MON-ØØ6Ø3-6, es una enzima homóloga a la EPSPS endógena del maíz (y otras plantas y microorganismos) pero a diferencia de ésta, posee mayor afinidad por su sustrato (fosfoenolpiruvato) que por el herbicida glifosato, permitiendo que la síntesis del corismato y de los aminoácidos aromáticos continúe del mismo modo en que lo haría en ausencia del glifosato, siendo ésta la base para la tolerancia al herbicida.

ARN miARN GA20ox_SUP

La biosíntesis de las giberelinas (GA), una clase de fitohormonas que regulan el crecimiento vegetal, está catalizada por varias enzimas y ocurre en tres etapas que producen GA bioactivos. La principal forma bioactiva en maíz, GA1, controla la elongación de los entrenudos; una reducción de GA1 disminuye la altura de la planta. La enzima GA20ox es esencial en las últimas etapas de la síntesis de GA bioactivos. En maíz, se identificaron cinco genes ZmGA20ox y cuatro genes putativos adicionales, entre los cuales ZmGA20ox3 y ZmGA20ox5 presentan mayor expresión en tejidos vegetativos y menor en reproductivos. Estos genes fueron seleccionados para la supresión de expresión en MON-948Ø4-4. Se desarrolló el cassette de supresión GA20ox_SUP mediado por microARN (miARN) que funciona como ARN de interferencia (ARNi).

El miARN GA20ox_SUP tiene 21 nucleótidos (nt) de longitud y es perfectamente complementario a la secuencia del gen ZmGA20ox3 y posee una única diferencia con la secuencia del gen ZmGA20ox5 ubicada por fuera de la región semilla ("*seed-region*") del sitio de reconocimiento del miARN, por lo que este miARN es capaz de suprimir ambos genes blanco. En cambio, existen múltiples diferencias entre la región de reconocimiento del miARN GA20ox_SUP con los restantes miembros de la familia ZmGA20ox.

4. Modificaciones genéticas introducidas

4.1. Método de obtención del OVG

El maíz MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6 es el resultado del cruzamiento convencional del maíz conteniendo los eventos parentales MON-87427-7, MON-948Ø4-4 y MON-ØØ6Ø3-6.

4.2. Secuencias introducidas

La información referente a todos los eventos parentales fue evaluada en instancias del análisis de riesgo sobre el agroecosistema de los eventos individuales, resultando en cada caso en Documentos de Decisión favorables.

5. Métodos de detección

La presencia de cada uno de los eventos parentales puede ser determinada molecularmente mediante PCR utilizando secuencias de oligonucleótidos específicos para cada evento. En este caso, el método se basa en la detección de la presencia simultánea de cada uno de los eventos parentales a partir de ADN extraído de una única muestra biológica.

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Productos de expresión de las secuencias introducidas

En el contexto de la evaluación y según consta en el documento de decisión favorable correspondiente a la acumulación MON-87427-7 × MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6, acumulaciones intermedias y eventos individuales, la proteína CP4 EPSPS producida a partir del evento MON-ØØ6Ø3-6 se expresa constitutivamente en todos los tejidos de la planta, y la generada por el evento MON-87427-7 se sintetiza en todo el vegetal a excepción de ciertos tejidos reproductivos masculinos claves para el desarrollo del polen en el maíz .

Para la acumulación de eventos, el nivel de expresión observado de la proteína CP4 EPSPS en grano de polen se corresponde con el observado para el evento MON-ØØ6Ø3-6. Para el resto de los tejidos, el nivel de expresión de la proteína CP4 EPSPS observado, es mayor que para los eventos individuales. Por lo que la proteína CP4 EPSPS sintetizada a partir de la copia de expresión constitutiva enmascara la de expresión selectiva de la otra copia.

Estos resultados confirman que la presencia simultánea de los productos de expresión introducidos en la acumulación de eventos, no modificó los niveles y patrones de expresión de cada uno de ellos respecto de los eventos parentales.

El transcripto de ARN miARN GA20ox_SUP, expresado en el maíz MON-948Ø4-4 no codifica para proteínas heterólogas.

2. Análisis de interacción de los productos de expresión

Se analizó la posibilidad de interacción entre las proteínas CP4 EPSPS y el ARN de interferencia miARN GA20ox_SUP presentes en la acumulación de eventos MON-87427-7 x

MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6 considerando los mecanismos de acción. Dichos mecanismos difieren entre sí (según se detalla en el punto 3.2, del presente documento), por lo tanto se puede inferir que no existe interacción entre los productos de expresión presentes en la acumulación de eventos.

3. Formulación de posibles hipótesis de riesgo sobre el agroecosistema

Cada uno de los eventos parentales y/o acumulaciones de eventos intermedias fueron evaluados en instancia de solicitudes previas concluyendo en todos los casos que:

- a) son estables genética y fenotípicamente a lo largo de las generaciones;
- b) se transfieren a la progenie siguiendo un patrón de herencia mendeliano simple;
- c) no presentan riesgo de transferencia horizontal o intercambio de genes con otros organismos;
- d) expresan productos que carecen de potencial tóxico o alergénico;
- e) no han generado nuevos marcos abiertos de lectura que representen un riesgo para el agroecosistema;
- f) no presentan diferencias biológicamente relevantes en comparación a sus contraparte convencionales salvo por las características introducidas.
- g) no presentan patogenicidad para otros organismos.

En conclusión de estas evaluaciones, la CONABIA emitió Documentos de Decisión favorables para cada uno de los eventos parentales o acumulaciones intermedias.

A su vez, para la presente evaluación de la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6, se formuló la hipótesis de riesgo de posible interacción entre los productos de expresión. De acuerdo a la evaluación de las rutas metabólicas y modos de acción de los productos de expresión CP4 EPSPS y miARN GA20ox_SUP, se descartó la hipótesis de riesgo.

CONCLUSIÓN

Del análisis de la información presentada en relación a la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6, se evidencia que este maíz GM no presenta nuevos riesgos o riesgos incrementados respecto del cultivo de otros maíces y, por lo tanto,

se concluye que su liberación al agroecosistema es tan segura como la de cualquier maíz comercial.

Esta conclusión de la CONABIA es sobre la bioseguridad de la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-948Ø4-4 x MON-ØØ6Ø3-6 en el agroecosistema, sin perjuicio del cumplimiento de normativas y del buen manejo de la tecnología para la prevención de resistencia en las malezas blanco de los herbicidas vinculados a la tolerancia conferida por la acumulación de eventos.