



*Secretaría de Agroindustria*  
*Ministerio de Producción y Trabajo*

ANEXO III

## **SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN DOCUMENTO DE DECISIÓN**

**Maíz (*Zea mays* L.) genéticamente modificado (GM) MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6, que contiene la acumulación de los eventos MON-87427-7, MON-87419-8, MON-ØØ6Ø3-6, los cuales presentan tolerancia a herbicidas formulados en base a glifosato (conferida por MON-87427-7 y MON-ØØ6Ø3-6), glufosinato de amonio y dicamba (conferida por MON-87419-8). La solicitud fue presentada por Monsanto Argentina S.R.L. El presente Documento de Decisión incluye al maíz GM MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6, a las acumulaciones intermedias de los eventos, 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 Dirección de Biotecnología acuerdan en dar por finalizada la Segunda Fase de Evaluación del maíz GM MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6.

El maíz GM MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6, que contiene la acumulación de los tres eventos de transformación MON-87427-7, MON-87419-8 y MON-ØØ6Ø3-6, fue obtenido mediante cruzamiento convencional de las líneas parentales conteniendo dichos eventos. Asimismo, la CONABIA evaluó los eventos individuales MON-87427-7, MON-87419-8 y MON-ØØ6Ø3-6, y en todos los casos, emitió Documentos de Decisión favorables. Además, los eventos MON-ØØ6Ø3-6 y MON-87427-7 cuentan con autorización comercial por SAGPyA Res. N°640/04 y 2018-19-APN-SAYBI#MA, respectivamente.

El maíz GM MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 ha sido ensayado a campo en Argentina en 2016 y en 2017. Para tal fin fueron evaluadas por la CONABIA dos (2) solicitudes de permisos para experimentación y/o liberación confinada al agroecosistema que han cumplido con la normativa vigente para los Organismos Vegetales Genéticamente



*Secretaría de Agroindustria*  
*Ministerio de Producción y Trabajo*

Modificados (OVGM), y han sido autorizadas por la entonces Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGyP) del Ex Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca y Secretaría de Agregado de Valor (SAV) del Ex Ministerio de Agroindustria.

El presente Documento de Decisión incluye al maíz GM MON-87427-7 x MON-87419-8 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* L.)

**2. Denominación del evento:** MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6.

### **3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas**

La acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 confiere tolerancia a los herbicidas formulados en base a glifosato, glufosinato de amonio y dicamba, otorgada por los productos de expresión de los genes *cp4 epsps* (MON-87427-7 y MON-ØØ6Ø3-6), *dmo* y *pat* (MON-87419-8).

La acumulación de eventos presenta tolerancia al herbicida glifosato, resultado de la expresión del gen *cp4 epsps* aportado por los eventos MON-87427-7 y MON-ØØ6Ø3-6. Mientras que la proteína CP4 EPSPS producida a partir de este último evento 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). El maíz MON-87427-7 será usado en la producción de semillas como línea parental femenina receptora del polen durante la producción de semilla híbrida. 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. Por



*Secretaría de Agroindustria*  
*Ministerio de Producción y Trabajo*

esta razón, el maíz MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 es fenotípicamente equivalente al maíz MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6.

Las actividades biológicas de las proteínas CP4 EPSPS, DMO y PAT se comprobaron en invernadero y en cámaras de crecimiento mediante un ensayo de dosis-respuesta a la aplicación de los tres herbicidas por separado. Éste consistió en la comparación del nivel de daño entre, por un lado, los eventos MON-87427-7, MON-ØØ6Ø3-6, la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 y su contraparte convencional ante la aplicación de glifosato; y por otro, el evento MON-87419-8, la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 y su contraparte convencional ante la aplicación de dicamba y glufosinato de amonio por separado.

### **3.1. Modo de acción de los herbicidas**

El glifosato inhibe la enzima cloroplástica 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), la cual se encuentra involucrada en la ruta bioquímica del corismato 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.

El glufosinato de amonio inhibe la actividad de la enzima glutamino sintetasa, compitiendo con el glutamato (sustrato natural) por el sitio activo, lugar donde ocurre la condensación de glutamato con amoníaco para dar glutamina. Esta inhibición evita la síntesis de L-glutamina, que no sólo es un precursor químico importante para la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, sino que además funciona como mecanismo para la incorporación de amoníaco en plantas. El tratamiento con glufosinato de amonio provoca la acumulación de amoníaco y el cese de la fotosíntesis.

El dicamba es herbicida sintético de la familia del ácido benzoico que actúa de manera similar a reguladores de crecimiento como las auxinas. De esta forma, la aplicación de dicho herbicida provoca un incremento de la concentración de este tipo de fitohormonas, induciendo anomalías en el crecimiento y en la expresión génica.



*Secretaría de Agroindustria  
Ministerio de Producción y Trabajo*

### **3.2. Mecanismo de acción de los productos de expresión**

Los mecanismos de acción de cada una de las proteínas responsables de conferir los fenotipos declarados, fueron evaluados oportunamente resultando en Documentos de Decisión favorables (MON-87427-7, MON-87419-8 y MON-ØØ6Ø3-6). En esta sección se detallan brevemente.

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.

La proteína Dicamba monooxigenasa (DMO), aportada por el evento MON-87419-8, es una enzima con función oxigenasa y forma parte de un sistema de tres componentes que cataliza la desmetilación de dicamba convirtiéndolo en ácido 3,6-diclorosalicílico (DCSA), un compuesto sin actividad herbicida, y formaldehído.

La enzima fosfotricina acetil transferasa (PAT), aportada por el evento MON-87419-8, cataliza específicamente la acetilación del glufosinato de amonio en su extremo N-terminal generando una molécula inactiva. De esta manera, la tolerancia es conferida por la modificación del herbicida permitiendo a la planta continuar con los procesos biológicos habituales. Es importante señalar que la enzima PAT no presenta actividad con el glutamato, cuya estructura es similar al glufosinato de amonio, lo cual denota una especificidad elevada.

## **4. Modificaciones genéticas introducidas**

### **4.1. Método de obtención del OVG**

El maíz MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 es el resultado del cruzamiento convencional de líneas parentales de maíz conteniendo dichos eventos.

### **4.2. Secuencias introducidas**

La información referente a todos los eventos parentales fue evaluada detalladamente en instancias de la evaluación de Segunda Fase de los eventos individuales, resultando en Documentos de Decisión favorables.



Secretaría de Agroindustria  
Ministerio de Producción y Trabajo

A continuación, se detallan los elementos genéticos responsables del fenotipo presente en cada uno de los eventos que forman parte de la acumulación objeto de esta solicitud y su función en el OVG:

| Evento      | Elemento genético | Función en el OVG   |
|-------------|-------------------|---|
| MON-87427-7 | <i>cp4 epsps</i>  | Codifica para la proteína CP4 EPSPS, que confiere tolerancia al herbicida glifosato.                  |
| MON-87419-8 | <i>dmo</i>        | Codifica para la proteína DMO, que confiere tolerancia a herbicidas basados en dicamba.               |
|             | <i>pat</i>        | Codifica para la proteína PAT, que confiere tolerancia a herbicidas basados en glifosinato de amonio. |
| MON-ØØ6Ø3-6 | <i>cp4 epsps</i>  | Codifica para la proteína CP4 EPSPS, que confiere tolerancia a herbicidas basados en glifosato.       |

#### 4.3. Número de copias, integridad y/o rearrreglos dentro de los insertos y sus regiones flanqueantes.

Los resultados del análisis molecular mediante la técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa o PCR (del inglés *Polymerase Chain Reaction*) y secuenciación confirman que, luego del proceso de cruzamiento convencional que dio origen a la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6, los insertos provenientes de los eventos parentales se mantuvieron íntegros y conservaron su *locus* en el genoma.

Por otra parte, la integridad y el número de copias de los insertos, los rearrreglos dentro de los mismos y en sus correspondientes regiones flanqueantes han sido evaluadas oportunamente en instancias de la evaluación de Segunda Fase de los eventos individuales resultando en Documentos de Decisión favorables en todos los casos. No se espera que éstas características hayan cambiado como consecuencia del cruzamiento convencional



*Secretaría de Agroindustria*  
*Ministerio de Producción y Trabajo*

empleado para obtener la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6.

## **5. Métodos de detección**

La presencia de cada uno de los eventos parentales puede ser determinada molecularmente mediante PCR utilizando cebadores 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**

La información referente a los niveles de expresión de las proteínas DMO, PAT y CP4 EPSPS ha sido presentada durante la Segunda Fase de evaluación de cada uno de los eventos parentales, resultando en Documentos de Decisión favorables.

Además, los niveles de expresión de las proteínas CP4 EPSPS aportadas por los eventos MON-87427-7 y MON-ØØ6Ø3-6 fueron analizados durante la Segunda Fase de evaluación de la acumulación de eventos MON-89Ø34 x MON-ØØ6Ø3-6 x MON-87427-7, la cual cuenta con Documento de Decisión favorable. Dado que la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 ha sido obtenida por cruzamiento convencional, no se espera que los niveles de expresión de las proteínas presentes en la acumulación de eventos objeto de la presente solicitud difieran de los rangos reportados anteriormente en los eventos parentales.

### **2. Análisis de interacción de los productos de expresión**

Se analizó la posibilidad de interacción entre las proteínas CP4 EPSPS, DMO y PAT en la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 considerando los mecanismos de acción.

A partir de la literatura científica, se sabe que las enzimas CP4 EPSPS, PAT y DMO, se encuentran involucradas en vías metabólicas distintas, y los sustratos y productos de las reacciones catalizadas por estas proteínas no se encuentran relacionados.



*Secretaría de Agroindustria*  
*Ministerio de Producción y Trabajo*

Los diferentes modos de acción y la alta especificidad de cada una de estas enzimas por su sustrato, constituyen evidencia consistente para inferir que no existe interacción entre las tres proteínas expresadas en la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6.

### **3. Formulación de posibles hipótesis de riesgo ambiental**

Cada uno de los eventos parentales 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 muestren características tóxicas o alergénicas;
- f) no presentan diferencias biológicamente relevantes en comparación a sus homólogos convencionales salvo por la característica introducida.

Como consecuencia de estas evaluaciones, la CONABIA emitió Documentos de Decisión favorables para cada uno de los eventos parentales y para las acumulaciones intermedias de eventos mencionadas anteriormente.

### **CONCLUSIÓN**

Considerando que se ha finalizado el análisis del conjunto de la información presentada en relación a la acumulación de eventos MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 y que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación a gran escala del mencionado maíz GM no difieren significativamente de los inherentes al cultivo de maíz no GM, la Comisión concluye que el maíz (*Zea mays spp. mays (L.)*) MON-87427-7 x MON-87419-8 x MON-ØØ6Ø3-6 no presentará efectos adversos sobre el agroecosistema.



*Secretaría de Agroindustria*  
*Ministerio de Producción y Trabajo*

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 15 de noviembre de 2018.