

DOCUMENTO DE DECISIÓN

Evaluación de la aptitud alimentaria eventos de maíz:

DAS-59122-7

MON89034 x TC1507 x MON88017 x DAS-59122-7



Dirección de Calidad Agroalimentaria

Elaborado por:

Coordinación de Biotecnología y productos Industrializados

INDICE

RESUMEN Y ANTECEDENTES	2
EVALUACIÓN	3
1 – Historia de uso y especificación del evento de transformación.....	3
2 - Estabilidad genética y caracterización molecular.	4
3 –Patrón y niveles de expresión	4
4 – Análisis Composicional.....	5
5 – Alergenicidad.....	6
6 – Toxicidad.....	7
7 - Interacciones.....	8
8 – Conclusión.....	8
9 – Normativa y recomendaciones	8

RESUMEN Y ANTECEDENTES

El proceso de evaluación de riesgo alimentario de eventos de transformación, producto de la biotecnología moderna, lo realiza el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), organismo regulador dependiente del Ministerio de Agroindustria.

La Dirección de Calidad Agroalimentaria del SENASA, es el área responsable de llevar a cabo esta función, contando para ello con un equipo científico y el asesoramiento de un Comité Técnico Asesor, compuesto por expertos de diversas disciplinas científicas, representando a los distintos sectores vinculados a la producción, industrialización, consumo, investigación y desarrollo de organismos genéticamente modificados.

El 18 de Noviembre del 2009 se recibe solicitud de las empresas Dow Agrosiences Argentina S.A y Monsanto Argentina S.R.L. y el 17 de Agosto del 2011 se recibe solicitud de las empresas Dow Agrosiences Argentina S.A. y Pioneer Argentina S.R.L., para la realización de la evaluación de aptitud alimentaria humana y animal del evento de transformación de maíz DAS59122-7, tolerante al herbicida glufosinato de amonio y resistente a coleópteros, y del evento acumulado MON89034 x TC1507 x MON88017 x DAS-59122-7 resistentes a ciertos insectos lepidópteros y coleópteros, y tolerantes a los herbicidas glifosato y glufosinato de amonio.

Se realizó una revisión de la solicitud a los efectos de corroborar el cumplimiento de lo establecido en la Resolución SENASA N° 412/02, normativa que establece los criterios y requisitos de evaluación de aptitud alimentaria humana y animal de organismos genéticamente modificados.

La información presentada fue analizada en primera instancia por el equipo técnico específico, luego fue sometida a evaluación del Comité Técnico Asesor. Finalmente la

Dirección de Calidad Agroalimentaria evaluó nuevamente, en tercera instancia, y concluye en el presente documento.

Por lo tanto, la Dirección de Calidad Agroalimentaria (DICA) como resultado del proceso de evaluación de aptitud alimentaria realizado por la Coordinación de Biotecnología y Productos Industrializados y el asesoramiento del Comité Técnico sobre el uso de Organismos Genéticamente Modificados del SENASA (acta del 25/06/2015) concluye que los productos derivados de materiales que contengan los eventos de transformación DAS59122-7 y de los eventos apilados DAS59122-7x MON89034 x TC1507 x MON88017 x DAS-59122-7 son aptos para el consumo humano y animal, no revisten riesgos agregados o incrementados por efecto de la transgénesis, más allá de los inherentes al alimento en cuestión y cumplen con los criterios y requisitos establecidos en la resolución SENASA N° 412/2002 y por el Codex Alimentarius FAO/OMS.

EVALUACIÓN

Los citados eventos, fueron evaluados siguiendo los lineamientos expuestos en la Resolución SENASA N° 412/02, sobre los “Fundamentos y Criterios para la Evaluación de Alimentos Derivados de Organismos Genéticamente Modificados”, los “Requisitos y Normas de Procedimiento para la Evaluación de la Aptitud Alimentaria Humana y Animal de los Alimentos derivados de Organismos Genéticamente Modificados”, y la “Información Requerida” para dicha evaluación. La citada Resolución contempla los criterios previstos por el Codex Alimentarius FAO/OMS. La evaluación fue realizada utilizando la información suministrada en la solicitud Anexo III, junto a información adicional solicitada y consultas a expertos, para establecer la aptitud alimentaria para consumo humano y animal.

1 – Historia de uso y especificación del evento de transformación

El maíz es el tercer cereal de importancia a nivel mundial, después del arroz y del trigo. Fue domesticado en América precolombina hace más de 8.000 años. Se cultiva comercialmente en varios países del mundo y posee un vasto historial de consumo seguro y no se han reportado casos de intoxicación o alergias debido a su consumo razonable.

Las plantas de maíz portadoras del evento apilado MON89034 x TC1507 x MON88017 x DAS-59122-7, fueron obtenidas mediante cruzamiento convencional de líneas portadoras de los eventos individuales: MON 87427, MON89034, TC1507, MON88017 y DAS-59122-7. Los eventos MON89034, TC1507, MON88017 fueron oportunamente evaluados y aprobados por el SENASA, por lo que el foco de evaluación se orientó al evento DAS-59122-7 y las potenciales interacciones metabólicas en el evento apilado.

Los eventos evaluados fueron obtenidos por transformación mediada por *A. tumefaciens* y expresan las siguientes proteínas:

Genes principales	Org. Donante	Proteína expresada	Función
<i>pat</i>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	PAT	Confiere tolerancia a glufosinato.
<i>cp4mepsps</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	CP4epsps	Confiere tolerancia a glifosato.
<i>cry34Ab1</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Cry34Ab1	Confiere protección insectos coleópteros
<i>cry35Ab1</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Cry35Ab1	
<i>cry3Bb1</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Cry3Bb1	
<i>cry1F:</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Cry1F	Confiere protección insectos lepidópteros
<i>cry1A.105</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Cry1A.105	
<i>cry2Ab2</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Cry2Ab2	

2 - Caracterización molecular y estabilidad genética

El conjunto de los resultados de los análisis de Southern blot permiten concluir que el evento DAS59122-7 contiene una única copia del cassette de expresión (ADN-T) en un único sitio de integración, y que todos los elementos genéticos del cassette de expresión se encuentran presentes. A la vez, demuestra la ausencia de secuencias del esqueleto plasmídico de PHP17662 y que no se interrumpieron secuencias endógenas del maíz DAS-59122-7.

Se observaron en todos los estudios, fragmentos de idéntico tamaño para plantas individuales de cuatro generaciones distintas del evento DAS-59122-7, indicado estabilidad en la herencia entre y dentro de diferentes generaciones.

El evento apilado MON89034 x TC1507 x MON88017 x DAS-59122-7 fue obtenido por cruzamiento convencional de los eventos parentales, los estudios presentados demuestran que los elementos genéticos no sufrieron modificaciones producto de la acumulación y se expresan de forma adecuada.

3 –Productos de Expresión, patrón y niveles

Por técnicas de ELISA se determinaron las concentraciones de las proteínas transgénicas en varios tejidos vegetales y etapas de crecimiento del cultivo de plantas crecidas en una misma localidad durante la misma campaña agrícola.

Los niveles de expresión promedio de la proteína Cry34Ab1 a través de tejidos estuvieron en un rango de 31.5 ng/mg tejido peso seco (muestra de planta entera tomada en V9), a 220 ng/mg tejido peso seco (muestra de hoja tomada en R4). Los niveles de expresión promedio de la proteína Cry35Ab1 a través de tejidos estuvieron en un rango de 0.02 ng/mg tejido peso seco (polen), a 85.3 ng/mg tejido peso seco (muestra de hoja tomada en R4). Los niveles de expresión promedio de la proteína PAT en los tejidos evaluados del maíz DAS-59122-7 estuvieron en un rango menor al límite de cuantificación en polen, forraje, grano y planta entera muestreada en R6.

Se realizó el análisis estadístico correspondiente determinándose que las proteínas evaluadas se expresan en niveles comparables estadísticamente entre los eventos simples y el evento acumulado.

4 – Análisis Composicional

Se evaluó un estudio para el análisis de composición del maíz DAS-59122-7 y su comparación con un isohíbrido cercano control convencional. Los resultados de la evaluación composicional demostraron que el maíz DAS-59122-7 y su isohíbrido control son sustancialmente equivalentes.

La fase a campo de este estudio fue conducida en Chile, y constó de seis localidades. Cada ensayo incluyó un diseño de bloques aleatorizados, con cuatro repeticiones. Todas las muestras en los lotes fueron producidas bajo condiciones agronómicas normales para las regiones geográficas respectivas.

En general no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el análisis del promedio entre localidades para los analitos evaluados. En los casos en que se observaron diferencias estadísticamente significativas en los promedios entre localidades, las diferencias no fueron consistentes entre los sitios individuales, y en todos los casos los valores promedio estuvieron dentro del rango de valores para maíz comercial encontrado en la base de datos de composición de cultivos de ILSI, y/o en la literatura

Por otro lado, el solicitante presentó información acerca del análisis composicional realizado sobre grano y forraje del maíz DAS59122-7 y MON89034 × TC1507 × MON88017 × DAS-59122-7, el control convencional (XE6001) y 14 híbridos de maíz comercial convencional utilizadas como materiales de referencia.

El ensayo se condujo durante el año 2006 en cinco localidades de Estados Unidos: los sitios fueron sembrados en un diseño de bloques totalmente al azar, con tres réplicas por bloque para cada uno de los materiales. Todas las muestras tomadas a campo fueron crecidas bajo condiciones agronómicas normales para los sitios donde fueron obtenidas.

Los resultados de los análisis de distintas muestras de maíz mostraron que los niveles de los nutrientes clave, anti-nutrientes y metabolitos secundarios cuantificados en forraje y grano de maíz con los eventos acumulados MON 89034 × TC1507 × MON 88017 × DAS-59122-7 y XE6001 son similares a los niveles presentes en los maíces convencionales actualmente disponibles en el mercado. Las pocas diferencias observadas entre los materiales *test* y control no mostraron relevancia biológica dado que todos los valores obtenidos se encuentran comprendidos en el rango de valores de los materiales de referencia analizados y los valores disponibles en la base de datos de ILSI.

Por lo expuesto, concluimos que el forraje y el grano derivados del maíz con los eventos de maíz DAS-59122-7 y el acumulado MON 89034 × TC1507 × MON 88017 × DAS-59122-7 son composicionalmente equivalentes, y tan nutritivos, como el forraje y el grano de maíces convencionales.

Aptitud Nutricional

Las empresas Dow AgroSciences Argentina S.A. y Pioneer Argentina S.R.L. declaran en la solicitud de determinación de aptitud alimentaria humana y animal que el maíz DAS-59122-7 es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional, por lo que el criterio de exigencia específico de este estudio no aplica en este caso.

Para el caso del evento apilado MON 89034 × TC1507 × MON 88017 × DAS-59122-7 no hay evidencia que indique cambios en las características nutricionales producto de la acumulación de eventos por cruzamiento convencional.

5 – Alergenicidad

Homología con proteínas alergénicas conocidas:

Ninguna de las secuencias utilizadas para obtener el evento DAS-59122-7 fueron tomadas de fuentes alergénicas, ni *Bacillus thuringiensis* (origen de los genes cry34Ab1 y cry35Ab1) ni *Streptomyces viridochromogenes* (origen del gen pat) presentan antecedentes como factores desencadenantes de alergias. En más de 30 años de uso comercial, no se han presentado informes científicamente relevantes sobre alergenidad de *B. thuringiensis*.

Se ha observado en los estudios presentados, que las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, y PAT, se degradan rápidamente *in vitro* en los fluidos digestivos simulados.

Ninguna de las proteínas expresadas en el evento DAS-59122-7 presenta similitudes de secuencias de aminoácidos con alérgenos, gliadinas, gluteínas o toxinas proteicas conocidas que tengan efectos adversos sobre mamíferos.

Toda esta información indica que las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1 y PAT, expresadas en el maíz DAS-59122-7, no muestran similitud con alérgenos conocidos.

Para el caso del evento apilado MON 89034 × TC1507 × MON 88017 × DAS-59122-7, las evaluaciones de alergenidad de cada una de las proteínas introducidas en el evento apilado presentadas y evaluadas oportunamente se mantienen vigentes. Los resultados de los análisis bioinformáticos presentados demuestran la ausencia de homologías de secuencia general o inmunológicamente relevante, cuando fueron comparadas con alérgenos o proteínas farmacológicamente activas.

Las características de peso molecular, concentración, digestibilidad simulada y termoestabilidad de las nuevas proteínas también fueron evaluadas oportunamente para cada uno de los eventos individuales. Para ninguna de las proteínas se encontró evidencia que las indique como potenciales alérgenos. Estas características no se modificaron por la acumulación de eventos, por lo tanto, de acuerdo a la evidencia evaluada, se concluye que es altamente improbable que los eventos evaluados expresen alérgenos.

6 – Toxicidad

La seguridad de las proteínas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 ha sido establecida según la siguiente información:

- Las proteínas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 han demostrado ser funcionalmente similares a las proteínas insecticidas Cry. Maíces transgénicos que expresan las proteínas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 han sido sembrados en grandes superficies desde 2006.

Las proteínas Cry han sido usadas como componentes de pesticidas microbianos derivados de Bt por más de 45 años, y son reconocidas como no tóxicas para humanos y demás especies de mamíferos al ser estudiadas individualmente o en combinación, y en formulaciones de insecticidas Bt.

- Estas proteínas no presentan similitud estructural con toxinas conocidas, o con otras proteínas biológicamente activas que causen efectos adversos en humanos u otros animales, tal como fue demostrado por análisis bioinformático.

- No presentan efectos tóxicos agudos en mamíferos. Los resultados de estudios de toxicidad oral aguda realizados en ratones demostraron que estas proteínas no son tóxicas ni causan efectos adversos, incluso a altas dosis que están varios órdenes por encima del nivel de exposición en humanos.

La baja concentración de estas proteínas en el grano de maíz DAS-59122-7 y su rápida digestibilidad en fluidos gástricos simulados proveen información adicional tendiente a confirmar la seguridad de este maíz.

La seguridad de la proteína PAT ha sido establecida mediante la siguiente información:

- La especie de *Streptomyces*, de la que proviene la proteína PAT, es un microorganismo común del suelo, ampliamente distribuido en la naturaleza en todo el mundo. Existe una historia de consumo seguro de la proteína PAT, dado que los vegetales que crecen en el suelo están en contacto continuo con *Streptomyces*. Además, dicha proteína comparte similitudes en sus propiedades estructurales y funcionales con otras acetil-transferasas, que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza.

- No presenta similitud estructural con toxinas conocidas, o con otras proteínas biológicamente activas que causen efectos adversos en humanos u otros animales, tal como fue demostrado por análisis bioinformático.

- No mostró ningún efecto tóxico agudo en mamíferos. Los resultados de estudios de toxicidad oral aguda realizados en ratones demostraron que no es tóxica ni causa efectos adversos, incluso a altas dosis que están varios órdenes por encima del nivel de exposición en humanos.

Para el caso del evento apilado MON 89034 × TC1507 × MON 88017 × DAS-59122-7, los estudios de toxicidad aguda y bioinformáticos de las proteínas expresadas fueron evaluados en los eventos parentales individuales y se mantienen vigentes, por lo expuesto se concluye que es altamente improbable que los eventos evaluados presenten riesgos toxicológicos para humanos y animales.

7 - Interacciones metabólicas

Los estudios presentados confirman que el cruzamiento convencional de las líneas conteniendo los eventos individuales, no resulta en cambios inesperados, que no hubo cambios fenotípicos, composicionales, nutricionales y que las proteínas introducidas en los eventos simples no comparten rutas metabólicas o modos de acción, concluyendo que es improbable la existencia de mecanismos de interacción entre los elementos genéticos que afecten la expresión de las nuevas proteínas.

8 – Conclusión

Luego de haber realizado la evaluación completa de riesgo alimentario a la información suministrada por las empresas las empresas Dow Agrosciences Argentina S.A, Monsanto Argentina S.A y Pioneer Argentina S.R.L. y teniendo en cuenta que:

- Los estudios de caracterización molecular demuestran que los insertos de cada evento individual se han mantenido de forma estable en el genoma de la planta luego del cruzamiento convencional.
- Las proteínas de nueva expresión en grano se expresan en bajos niveles.
- Es sustancial y nutricionalmente equivalente a su contraparte no transgénica.
- No se encontró evidencia de similitud u homología con proteínas tóxicas conocidas.
- No se encuentra evidencia de expresión de sustancias alergénicas conocidas para las proteínas expresadas en el evento apilado.
- Se evaluaron estudios que indican que no hay efectos de interacción entre las proteínas de los eventos cuando están acumulados.

Se concluye que los eventos de maíz evaluados, y todos los eventos intermedios posibles, son sustancialmente equivalentes a su contraparte convencional, por lo tanto, tan seguros y no menos nutritivos que el maíz convencional.

De acuerdo a lo anteriormente descrito, y en función del conocimiento científico actualmente disponible y de los requisitos y criterios internacionalmente aceptados, no se encuentran reparos para la aprobación para consumo humano y animal de los eventos de maíz MON89034 x TC1507 x MON88017 x DAS-59122-7 y DAS59122-7, y todas sus posibles combinaciones intermedias.

9 – Normativa y recomendaciones

- Resolución SENASA N° 1265/99.

- Resolución SENASA N° 412/02.
- Principios para el análisis de riesgos de alimentos obtenidos por medios biotecnológico modernos (CAC/GL 44-2003).
- Directrices para la realización de la evaluación de la inocuidad de los alimentos obtenidos de plantas de ADN Recombinante (CAC/GL 45-2003).
- Consensus Document's for the work on the Safety of Novel Foods and Feeds (OECD).
- Resolución MAGyP N° 763/2011.
- Base de datos ILSI 2007.
- Base de datos de Alérgenos (FARRP database).

Buenos Aires, 25/06/2015



Ing. Agr. JUAN C. BATISTA
DIRECTOR de CALIDAD AGROALIMENTARIA
SENASA