



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional*

ANEXO IV

**SEGUNDA FASE DE EVALUACIÓN
DOCUMENTO DE DECISIÓN
ANÁLISIS DE RIESGO SOBRE EL AGROECOSISTEMA**

Maíz (*Zea mays*) genéticamente modificado (GM) DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 que contiene la acumulación de los eventos DP-202216-6, MON-00603-6 y DAS-40278-9 y presenta tolerancia a herbicidas a base de glifosato, glufosinato de amonio, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), y herbicidas a base de ariloxifenoxipropionato (AOPP - en Argentina haloxifop). Además, confiere un mayor potencial de rendimiento. La solicitud fue presentada por Corteva Agriscience Argentina S.R.L. El presente Documento de Decisión incluye al maíz DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9, 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 Coordinación de Innovación y Biotecnología (ClyB) acuerdan en dar por finalizado el análisis de riesgo sobre el agroecosistema del maíz (*Zea mays*) genéticamente modificado (GM) DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9.

El maíz genéticamente modificado que contiene la acumulación de los tres eventos de transformación DP-202216-6, MON-00603-6 y DAS-40278-9, fue obtenido mediante cruzamiento convencional de los parentales que contienen los eventos correspondientes. Cabe mencionar que el evento MON-00603-6 fue aprobado bajo la resolución RESOL-2004-640-SAGPyA bajo la denominación NK603, el evento DAS-40278-9 fue aprobado bajo las resolución RESOL-2018-117-SAV y el evento DP-202216-6 cuenta con Documento de Decisión favorable publicado según nota NO-2022-28443207-APN-DNB#MAGYP.

El presente Documento de Decisión incluye al maíz genéticamente modificado DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9, a las acumulaciones intermedias de los eventos, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier maíz no GM.



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional*

I. CARACTERIZACIÓN DEL ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OVGM)

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

2. Denominación del evento: DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9

3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas:

La acumulación de eventos DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 presenta tolerancia a la aplicación de glifosato, otorgada por el producto de expresión CP4EPSPS (MON-00603-6), glufosinato de amonio, otorgada por el producto de expresión PAT (DP-202216-6) y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y herbicidas a base de ariloxifenoxipropionato (AOPP - en Argentina haloxifop) otorgada por el producto de expresión AAD-1 (DAS-40278-9)

A su vez, el evento DP-202216-6 expresa la enzima ZMM28 nativa de maíz, que da como resultado un mayor potencial de rendimiento de grano a través de un mayor vigor de planta, un aumento de la capacidad fotosintética, y una utilización mejorada de los nutrientes.

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 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.

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.



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional*

El haloxifop inhibe la enzima acetil-CoA carboxilasa, enzima plastídica que cataliza el primer paso en la biosíntesis de ácidos grasos, componentes esenciales para la producción de lípidos. Por lo tanto, afectan la integridad de las membranas celulares y el crecimiento de la planta.

El 2,4 D actúa de forma similar a las auxinas o fitohormonas vegetales la aplicación genera incrementos en las concentraciones celulares de dichos reguladores, induciendo anomalías en el crecimiento y expresión génica.

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. En esta sección se describe cada uno de estos mecanismos y se demuestra que no interactúan entre sí, ya que participan en rutas metabólicas diferentes:

La proteína CP4EPSPS, presente en el evento MON-ØØ6Ø3-6, es insensible a la inhibición por glifosato y por lo tanto conserva sus funciones en la ruta metabólica del shikimato, catalizando la transformación de fosfo-enolpiruvato (PEP) a Shikimato-3-fosfato (S3P). Esta proteína no se encuentra en animales y éste es el factor que contribuye al efecto selectivo del glifosato en plantas.

La proteína PAT (fosfinotricina-N-acetiltransferasa), presente en el evento DP-2Ø2216-6, confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio catalizando la conversión de L-glufosinato (un análogo del ácido L-glutámico) a su forma acetilada, la cual deja de actuar como un inhibidor de la glutamino sintetasa. Ésta es responsable de la detoxificación del amoníaco en plantas superiores. El resultado de este proceso es la tolerancia de las plantas de maíz portadoras del evento DP-2Ø2216-6 al glufosinato de amonio, lo que permite un uso selectivo de herbicidas que contienen dicho principio activo.

La proteína AAD-1, expresada en el evento de maíz DAS-4Ø278-9, degrada al 2,4-D en 2,4-diclorofenol (DCP), convirtiéndolo en una sustancia inactiva como herbicida. Por otro lado actúa sobre el haloxifop convirtiéndolo en su forma sin actividad herbicida como fenol.

Por lo descrito anteriormente es evidente que las rutas metabólicas en las que están involucradas las proteínas expresadas en estos eventos son independientes entre sí, por lo cual no se espera interacción entre ellas.



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional

4. Modificaciones genéticas introducidas

4.1. Método de obtención del OGMV

El maíz DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 es el resultado del cruzamiento convencional de líneas de maíz conteniendo los eventos individuales DP-202216-6, MON-00603-6 y DAS-40278-9.

4.2. Secuencias introducidas

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

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 OGMV:

Evento	Elemento genético	Función en el OGMV
DP-202216-6	<i>zmm28</i>	Gen que codifica el factor de transcripción ZMM28, por lo que se logra un incremento y extensión del período de expresión de la proteína endógena de maíz, que resulta en plantas con mayor potencial de rendimiento.
DP-202216-6	<i>mo-pat</i>	Gen de fosfinotricina acetiltransferasa optimizado para maíz, que confiere tolerancia a herbicidas basados en glufosinato de amonio.
MON-00603-6	<i>cp4epsps</i>	Codifica para la proteína CP4EPSPS, que confiere tolerancia a herbicidas formulados en base a glifosato.



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional*

DAS-40278-9	<i>aad-1</i>	Codifica para la proteína AAD-1, que confiere tolerancia a herbicidas formulados en base a 2,4 D y haloxifop.
-------------	--------------	---

5. Métodos de detección

La presencia de cada uno de los eventos individuales 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 individuales 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 los productos ZMM28, PAT, CP4EPSPS y AAD-1 ha sido presentada durante el análisis de riesgo sobre el agroecosistema de cada uno de los eventos individuales, resultando en Documentos de Decisión favorables. Dado que la acumulación de eventos DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 ha sido obtenida por cruzamiento convencional y no hay interacción entre los genes introducidos, no se encuentra una hipótesis de riesgo asociada al aumento de los niveles de expresión de las proteínas ZMM28, PAT, CP4EPSPS y AAD-1 que difieran de los rangos reportados anteriormente en los eventos individuales.

2. Análisis de interacción de los productos de expresión

Se analizó la posibilidad de interacción entre las proteínas ZMM28, PAT, CP4EPSPS y AAD-1 presentes en la acumulación de eventos DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 considerando los mecanismos de acción. Las rutas metabólicas de las mencionadas proteínas que confieren mayor potencial de rendimiento, tolerancia a herbicidas a base de glufosinato de amonio, tolerancia a herbicidas a base de glifosato, tolerancia a herbicidas a base de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), y a herbicidas a base de ariloxifenoxipropionato (haloxifop) son diferentes entre sí.



*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional*

Estos resultados constituyen evidencia consistente para inferir que no existe interacción entre las cuatro proteínas expresadas en la acumulación de eventos DP-2Ø2216-6 x MON-ØØ6Ø3-6 x DAS-4Ø278-9.

3. Formulación de posibles hipótesis de riesgo sobre el agroecosistema

Cada uno de los eventos individuales 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 la característica introducida.
- 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 individuales.

A su vez, para la presente evaluación de la acumulación de eventos DP-2Ø2216-6 x MON-ØØ6Ø3-6 x DAS-4Ø278-9, se formuló la hipótesis de riesgo de posible interacción entre los productos de expresión. De acuerdo a la evaluación de las rutas metabólicas implicadas en los mencionados productos ZMM28, PAT, CP4EPSPS y AAD-1 se descartó la hipótesis de riesgo.

CONCLUSIÓN

Del análisis de la información presentada en relación a la acumulación de eventos DP-2Ø2216-6 x MON-ØØ6Ø3-6 x DAS-4Ø278-9, y a sus combinaciones intermedias, se evidencia que los riesgos de bioseguridad derivados de la liberación al agroecosistema de la mencionada acumulación de eventos no difieren significativamente de los inherentes al cultivo de maíz no GM.



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional

Esta conclusión de la CONABIA es sobre la bioseguridad de la acumulación de eventos DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 y de sus combinaciones intermedias 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.

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 21 de julio de 2022.