

DOCUMENTO DE DECISIÓN EVALUACIÓN DE RIESGO SOBRE EL AGROECOSISTEMA

Maíz (*Zea mays L.*) genéticamente modificado (GM) SYN-ØØ26Ø-3, que presenta protección contra ciertos insectos lepidópteros plaga. La solicitud fue presentada por Syngenta Agro S.A.

INTRODUCCIÓN

A partir del análisis de la información presentada por el solicitante y del conocimiento científico actualmente disponible, quienes suscriben, personas que integran la Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria (CONABIA) y la Coordinación de Innovación y Biotecnología acuerdan en dar por finalizada la evaluación de riesgo para el agroecosistema para la autorización comercial del maíz SYN-ØØ26Ø-3.

El presente Documento de Decisión incluye al maíz GM SYN-ØØ26Ø-3, y a toda la progenie derivada de los cruzamientos de este material con cualquier maíz no GM.

I. CARACTERIZACIÓN DEL ORGANISMO VEGETAL GENÉTICAMENTE MODIFICADO

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

2. Denominación del evento: SYN-ØØ26Ø-3

3. Fenotipo aportado por las modificaciones genéticas introducidas

El evento SYN-ØØ26Ø-3 confiere protección frente a ciertos insectos lepidópteros plaga otorgada por el producto de expresión del gen *eCry1Gb.1lg-03*. También está presente el gen *pmi*, cuyo producto de expresión es la enzima fosfomanosa isomerasa utilizada como marcador de selección.

4. Modificaciones genéticas introducidas

4.1. Método de obtención del OGM vegetal

El evento fue obtenido mediante transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

4.2. Secuencias introducidas

Elemento genético	Descripción / Función en el OGM VEGETAL
-------------------	---

<i>SoUbi4-02 promoter</i>	Secuencia promotora del gen <i>eCry1Gb.1lg-03</i> .
<i>eCry1Gb.1lg-03</i>	Secuencia codificante para la proteína quimérica <i>eCry1Gb.1lg</i> .
<i>ZmUbi361-05 terminator</i>	Secuencia terminadora del gen <i>eCry1Gb.1lg-03</i> .
<i>Ubi1-43 promoter</i>	Secuencia promotora del gen <i>pmi-15</i> .
<i>pmi-15</i>	Secuencia codificante para la proteína PMI.
<i>Ubi1-04 terminator</i>	Secuencia terminadora del gen <i>pmi-15</i> .
<i>LB-01-01</i>	Región del borde izquierdo del ADN-T del plásmido Ti nopalina de <i>A. tumefaciens</i> . Repetición directa corta que flanquea el ADN-T. Es necesaria para la transferencia del ADN-T a la célula vegetal.

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

Se realizó un análisis extensivo del inserto presente en el evento SYN-ØØ26Ø-3 mediante WGS (Whole Genome Sequencing) y se identificaron y caracterizaron las secuencias únicas de unión genoma-inserto mediante un método de análisis bioinformático de caracterización de sitios de inserción (ISC). Se confirmó la integridad del inserto y se identificó un sitio de integración único.

No se identificaron secuencias del esqueleto del vector pSYN24795.

4.4. Regiones flanqueantes a los insertos

Si bien la transformación genética puede originar efectos no intencionales a través de la inserción del transgén o la construcción, incluyendo la posible interrupción de genes o elementos regulatorios del genoma vegetal, y la posible expresión a partir de nuevos marcos de lectura abiertos (ORF), estos efectos se fueron descartando durante el proceso de selección a campo, en invernáculo y/o laboratorio que dio lugar a la selección del presente evento. La ausencia de efectos no intencionales que pudieran suponer un riesgo para el agroecosistema, finalmente se confirmaron en los estudios de caracterización agrofenotípica. En estos estudios se analizaron diversos parámetros como poder germinativo, dormancia de semillas, fenología, fenotipo, comportamiento frente a estreses bióticos y abióticos, determinados en múltiples sitios distribuidos en una amplia variabilidad de condiciones agroclimáticas.

De la evaluación de riesgo realizada, no se espera que la presencia del inserto tenga consecuencias biológicas adversas para el agroecosistema respecto del mencionado cultivo.

5. Métodos de detección

El evento de maíz SYN-ØØ26Ø-3 puede ser detectado por PCR utilizando semilla, grano, forraje y todo subproducto que contenga ADN de maíz con un mínimo grado de integridad que permita su amplificación.

II. EVALUACIÓN DE RIESGO

1. Estabilidad genética

Para estudiar la estabilidad genética del inserto, se aisló ADN genómico a partir de hojas de cuatro plantas por generación, de las generaciones T1, T3, y F1 más tres controles, y se realizaron las secuenciaciones de genomas completos (WGS). Los análisis de la secuencia de las tres generaciones indicaron que el inserto está presente como una sola copia y es estable probadamente a lo largo de 3 generaciones del maíz.

2. Productos de expresión de las secuencias introducidas

La nueva proteína quimérica eCry1Gb.1Ig posee 1169 aminoácidos y deriva de la combinación de dos proteínas parentales Cry (Cry1Gb y Cry1Ig). Cry1Gb y Cry1Ig se clonaron a partir de líneas aisladas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) y se caracterizaron mediante bioensayos. La proteína eCry1Gb.1Ig se creó mediante la sustitución del tercer dominio de Cry1Gb por el tercer dominio de Cry1Ig (Figura 1).

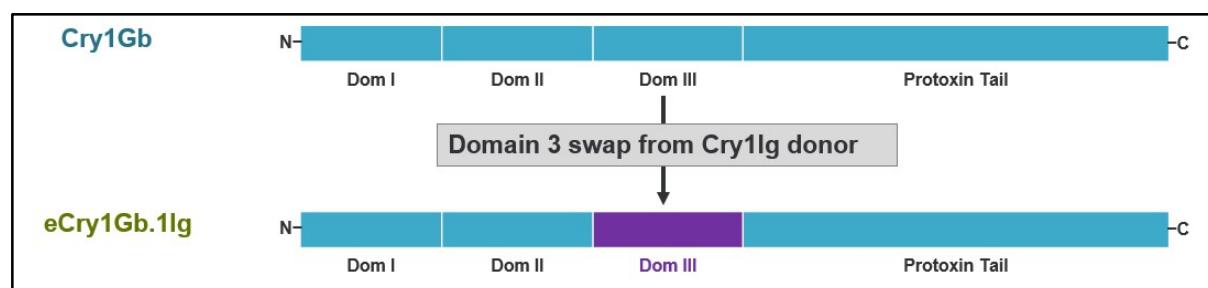


Figura 1. Creación de la proteína eCry1Gb.1Ig. Imagen aportada por el solicitante.

La fosfomanosa isomerasa (PMI) es una enzima que le permite a las plántulas transformadas genéticamente crecer en medios para cultivo *in vitro* con manosa como fuente exclusiva de carbono. Esta capacidad fue utilizada durante el desarrollo como marcador de selección.

Evento	Elemento genético	Producto de expresión	Fenotipo aportado
MZIR260	<i>eCry1Gb.1lg-03</i>	eCry1Gb.1lg	Maíz con actividad insecticida contra ciertos insectos lepidópteros plaga, como <i>Spodoptera frugiperda</i> , entre otros.
MZIR260	<i>pmi-15</i>	PMI: fosfomanosa isomerasa	Fue utilizado como marcador de selección en el proceso de obtención del OVGM dado que permite a las células vegetales crecer en medios selectivos.

2.1 Mecanismo de acción de los productos de expresión

La proteína eCry1Gb.1lg tiene actividad insecticida altamente específica con un modo de acción similar a otras proteínas Cry1 bien caracterizadas: forma inclusiones cristalinas solubles en el intestino medio de plagas de insectos lepidópteros susceptibles, como *Spodoptera frugiperda*, entre otros. Después de la solubilización, la proteína puede ser escindida proteolíticamente por las proteasas presentes en el intestino medio del insecto, en un fragmento activo que consiste aproximadamente en la mitad aminoterminal de la proteína. Al igual que otras proteínas Cry1 bien caracterizadas, eCry1Gb.1lg actúa uniéndose a receptores específicos en la superficie de las células epiteliales del intestino medio de las plagas objetivo. Luego, las proteínas Cry1 se oligomerizan y forman perforaciones en la membrana celular que causan un desequilibrio de la presión osmótica, seguido de hinchazón, lisis y muerte celular. La muerte celular conduce a la insuficiencia orgánica del intestino medio y, finalmente, a la muerte del insecto.

2.2 Análisis del potencial tóxico

Para determinar si la proteína eCry1Gb.1lg tiene homología de aminoácidos significativa con secuencias de proteínas identificadas como toxinas, se comparó la secuencia de la proteína con las secuencias de proteínas disponibles públicamente en la base de datos de NCBI (National Center for Biotechnology Information Entrez® Protein Database) y con las

disponibles en una base de datos curada de secuencias de toxinas de mamíferos conocidas o putativas (base de datos de toxinas de Syngenta), usando en cada caso la herramienta Basic Local Alignment Search Tool for Proteins (BLASTP). Los resultados de ambas comparaciones confirman que eCry1Gb.1Ig no es una toxina de mamíferos, ni comparte una similitud de secuencia significativa con otras toxinas de proteínas de mamíferos conocidas o putativas.

3. Nuevos péptidos hipotéticos

Si bien la transformación genética puede originar efectos no intencionales a través de la inserción del transgén o la construcción, incluyendo la posible interrupción de genes o elementos regulatorios del genoma vegetal, y la posible expresión a partir de nuevos marcos de lectura abiertos (ORF), estos efectos se fueron descartando durante el proceso de selección a campo, en invernáculo y/o laboratorio que dio lugar al evento líder SYN-ØØ26Ø-3. La ausencia de efectos no intencionales que pudieran suponer un riesgo para el agroecosistema, finalmente se confirmó en los estudios de caracterización agrofenotípica. En estos estudios se analizaron diversos parámetros, como poder germinativo, dormancia de semillas, fenología, fenotipo, comportamiento frente a estreses bióticos y abióticos, determinados en múltiples sitios distribuidos en una amplia variabilidad de condiciones agroclimáticas.

4. Análisis de potenciales efectos adversos sobre el agroecosistema

4.1. Comportamiento agrofenotípico

Se realizaron estudios agrofenotípicos comparativos entre el evento SYN-ØØ26Ø-3 y su contraparte convencional. Los datos fueron obtenidos de ensayos a campo realizados durante la campaña 2022 en ocho (8) localidades de los Estados Unidos de Norteamérica bajo diversas condiciones ambientales. Los parámetros evaluados fueron: recuento de brotes tempranos, días hasta el 50% de desprendimiento de polen, días hasta el 50% de ensilado, altura de mazorca, altura de planta, días hasta la madurez, recuento final de brotes, plantas con nudos en el tallo, plantas con nudos en la raíz, humedad del grano, rendimiento de grano y peso de cien granos.

Los resultados de los análisis estadísticos entre localidades mostraron diferencias significativas entre el maíz SYN-ØØ26Ø-3 y el control para los parámetros largo de la mazorca y altura de planta. Sin embargo, estas diferencias se encuentran dentro del rango de la especie y, por lo tanto, no tendrían ningún efecto sobre el cultivo o la calidad de la

cosecha. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el maíz SYN-ØØ26Ø-3 y el maíz control para el resto de las características consideradas. Los valores medios de todas las características agronómicas medidas del maíz SYN-ØØ26Ø-3, incluidos aquellos para los que no era apropiado un análisis estadístico formal, se encontraron dentro de los rangos observados para los híbridos de referencia no GM. Las plantas portadoras del evento SYN-ØØ26Ø-3 no presentaron diferencias inesperadas con respecto al control convencional en cuanto a sus características agrofenotípicas y su interacción con factores de estreses bióticos y abióticos.

Por lo expuesto, se concluye que el evento SYN-ØØ26Ø-3 presenta un comportamiento agrofenotípico similar al de su contraparte no GM y, por lo tanto, no hay evidencias que sugieran la existencia de efectos no intencionales que puedan resultar en un riesgo para el agroecosistema.

4.2. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Se llevó a cabo un estudio de poder germinativo y dormición sobre las semillas del evento SYN-ØØ26Ø-3. El ensayo para cada régimen de temperatura se realizó utilizando un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones de 100 semillas cada una. Se determinaron los valores medios mínimos y máximos para los materiales de referencia que proveen valores representativos para los híbridos de maíz comercial. Se evaluaron las siguientes características: germinada normalmente, germinada anormalmente, muerta, firme hinchada y viable, o dura viable (AOSA, 2013).

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre el maíz SYN-ØØ26Ø-3 y el maíz control convencional en los regímenes de temperatura óptimos (25°C) o subóptimos ($10/25^{\circ}\text{C}$) para todas las características evaluadas, incluida la semilla dura viable.

En base a la información analizada, se concluye que el evento SYN-ØØ26Ø-3 posee un comportamiento equivalente en relación a germinación y dormancia respecto a su contraparte convencional. Por lo tanto, no se evidencian riesgos nuevos o incrementados para que adquiera características de maleza.

4.3. Potencial para la transferencia horizontal o intercambio de genes del OGM vegetal con otros organismos

La biología reproductiva del evento SYN-ØØ26Ø-3 no difiere a la del maíz no GM; además, hasta el momento no se han reportado en Argentina especies cultivadas ni silvestres sexualmente compatibles.

A partir de la literatura científica disponible hasta el momento, se sabe que no existen casos de transferencia horizontal de genes desde el maíz hacia microorganismos, vectores virales o insectos y no existen razones para suponer que esta característica haya cambiado en el evento SYN-ØØ26Ø-3.

4.4. Patogenicidad para otros organismos

El maíz es reconocido como una especie no patógena para otros organismos y esta característica no se encuentra alterada en el maíz GM objeto de esta evaluación.

Por otro lado, no hay evidencias de patogenicidad para las personas o los animales de parte de ninguno de los organismos donantes de los elementos genéticos (codificantes y no codificantes) que se encuentran presentes en la construcción utilizada para la obtención del maíz SYN-ØØ26Ø-3.

Por todo lo expuesto en el punto 4 del apartado de caracterización molecular, no hay evidencias que sugieran la existencia de efectos no intencionales derivados de la expresión de los genes del evento analizado que puedan resultar en un impacto adverso sobre el agroecosistema.

4.5. Organismos no blanco

La evaluación de posibles efectos adversos de la proteína eCry1Gb.1Ig sobre organismos no blanco, pertenecientes a distintos grupos funcionales relevantes para el agroecosistema local, fue realizada en el contexto del análisis de riesgo para la liberación al agroecosistema del evento SYN-ØØ26Ø-3.

Se utilizaron como referencia ensayos de laboratorio en los cuales las especies sustitutas fueron expuestas a distintas concentraciones de la proteína eCry1Gb.1Ig. Las mismas fueron: abejas melíferas adultas (*Apis mellifera*) como polinizador, Collembola (*Folsomia candida*) y lombriz de tierra (*Eisenia fetida*) como organismos del suelo, escarabajos (*Coleomegilla maculata*), crisopas (*Chrysoperla carnea*) como organismos depredadores, estafilínido (*Aleochara bilineata*) como descomponedor y depredador del suelo, la pulga de agua (*Daphnia magna*) como organismo acuático y la codorniz cotuí (*Colinus virginianus*).

Sus resultados confirmaron la ausencia de efectos adversos de la proteína eCry1Gb.1Ig sobre organismos que cumplen diferentes servicios ecosistémicos. Para arribar a esta conclusión,

también se realizaron estudios de equivalencia entre proteínas y se compararon los niveles de expresión de la proteína eCry1Gb.1Ig del evento SYN-ØØ26Ø-3 y las dosis utilizadas para cada especie sustituta en los ensayos de laboratorio.

Tomando como sustento la información presentada, no se identificaron nuevas hipótesis de riesgo asociadas a los restantes organismos que se hallan presentes en el agroecosistema local.

5. Plan de Manejo de Resistencia a Insectos (PMRI)

De acuerdo a lo establecido en la Resolución N° 49/2021 de la Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, el Plan de Manejo de Resistencia a Insectos (PMRI) se deberá presentar para su evaluación por la ClyB y la CONABIA previamente a la inscripción de cultivares de maíz que contengan el evento SYN-ØØ26Ø-3 en el Registro Nacional de Cultivares (RNC) del Instituto Nacional de Semillas (INASE). De acuerdo a lo establecido en dicha resolución, la inscripción de los mencionados cultivares quedará supeditada a la evaluación favorable del PMRI por parte de la ClyB y la CONABIA.

CONCLUSIÓN

Del análisis de la información presentada en relación al evento SYN-ØØ26Ø-3 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.