

DOCUMENTO DE DECISIÓN

**Evaluación de la aptitud alimentaria del evento de maíz DAS-40278-9
y MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x DAS-40278-9**



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 - Caracterización molecular y estabilidad genética	4
3 –Productos de Expresión, patrón y niveles.....	4
4 – Análisis Composicional.....	5
5 – Aptitud Nutricional.....	6
6 – Alergenicidad.....	6
7 – Toxicidad.....	7
8 – Potencial de interacciones	7
9 – Conclusión.....	7
10 – 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 27 de enero del 2011 se recibe solicitud de la empresa Dow AgroSciences Argentina S.A., para la realización de la evaluación de aptitud alimentaria humana y animal del evento de transformación de maíz DAS-40278-9 (OECD DAS-40278-9) tolerante a herbicidas del grupo de los ariloxifenoxis y a base de 2,4-D, y el 4 de Diciembre de 2012 se recibe la solicitud del evento acumulado de maíz MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 (OECD MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x DAS-40278-9) tolerante a ciertos insectos lepidópteros plaga, y a herbicidas a base de glifosato, de glufosinato de amonio, herbicidas del grupo de los ariloxifenoxis y herbicidas a base de 2,4-D.

Se realizó una revisión de las solicitudes 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 27/07/2017) concluye que los productos derivados de materiales que contengan los eventos de transformación DAS-40278-9, MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 y todas sus combinaciones intermedias, 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 mencionada Resolución contempla los criterios previstos por el Codex Alimentarius FAO/OMS. Las evaluaciones fueron realizadas 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.

El evento DAS-40278-9 fue obtenido mediante transformación realizada a través de la inserción directa, mediada por *whiskers* de carburo de silicio, y confiere tolerancia al 2,4-D y a herbicidas de la familia de los “fop”. Posee acción sobre los siguientes herbicidas produciendo metabolitos inactivos:

- 2,4-D
- Haloxifop
- Quizalofop
- Diclorprop
- MCPA

La evaluación de riesgo de los metabolitos producto de la acción de la enzima sobre los herbicidas en donde posee actividad, no evidencian un riesgo mayor que los principios activos originales.

El maíz MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 surge del cruzamiento convencional del maíz MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6

aprobado comercialmente en Argentina, y el maíz DAS-40278-9, y es resistente a ciertos insectos lepidópteros plaga, y tolerante a herbicidas a base de glifosato, de glufosinato de amonio, herbicidas de la familia de los “fop” y herbicidas a base de 2,4-D.

Se hizo foco en la evaluación del evento parental DAS-40278-9, único evento individual que forma parte de este evento acumulado sin antecedentes de evaluación hasta el momento, y en la posibilidad de interacción entre MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 y DAS-40278-9.

2 - Caracterización molecular y estabilidad genética

La inserción del transgén en el evento DAS-40278-9 se realizó como una única integración simple e intacta del *cassette* de expresión del gen *aad-1*, de manera estable y heredable y se mantuvo la estabilidad del inserto a lo largo de distintas generaciones. No se detectaron secuencias estructurales del plásmido utilizado en el evento DAS-40278-9.

Dado a que cada evento presente en el producto acumulado posee un patrón de segregación independiente, no hay ninguna razón para que el proceso de cruzamiento convencional entre MON-89034-3, DAS-01507-1, MON-00603-6 y DAS-40278-9 con el fin obtener el evento acumulado, pudiese haber alterado los patrones de segregación observados en los eventos individuales.

Se demostró que el evento acumulado generó las bandas de hibridización esperadas para los eventos individuales confirmando que los eventos individuales están presentes

3 –Productos de expresión, patrón y niveles

Evento	Genes principales	Organismo donante	Producto expresado	Función
MON89034	<i>cry1a.105</i> <i>cry2ab2</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Cry1A.105 y Cry2Ab2	Resistencia a lepidópteros
TC1507	<i>cry1f</i> <i>pat</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Streptomyces viridochromogenes</i>	Cry1F y PAT	Resistencia a lepidópteros y Tolerancia a Glufosinato
NK603	<i>cp4epsps</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> cepa CP4	CP4 EPSPS	Tolerancia a Glifosato
DAS-40278	<i>aad-1</i>	<i>Sphingobium herbicidivorans</i>	AAD-1 - Ariloxialcanoato Dioxigenasa-1	Tolerancia a 2,4-D y ariloxifenoxis (fop)

El transgén *aad-1* presente en el evento de maíz DAS-40278-9 codifica la proteína Ariloxialcanoato dioxigenasa (AAD-1) cuya secuencia es idéntica a la proteína AAD-1 producida por la bacteria del suelo *Sphingobium herbicidovorans*, excepto por la inserción de una molécula de alanina en la posición 2.

La proteína AAD-1 está comprendida por 296 aminoácidos y tiene un peso molecular de 33 kDa.

Se evaluaron los niveles de expresión de las proteínas incorporadas en el evento acumulado MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x DAS-40278-9: AAD-1 (expresada por el evento parental DAS-40278-9) y Cry1F, Cry1A.105, Cry2Ab2 y EPSPS (expresadas por el evento parental MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6).

Las evaluaciones fueron realizadas en varios tejidos y etapas ontogénicas de plantas de maíz, mediante ensayos de ELISA, a partir de un estudio realizado a campo en la región maicera de Estados Unidos, en 10 localidades que abarcan la diversidad de prácticas agronómicas y condiciones ambientales.

Se determinaron los niveles de expresión en el evento MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 de cada una de las proteínas de nueva expresión en diferentes tejidos y etapas del cultivo, encontrándose en todos los casos los patrones de expresión esperados. Los valores de expresión fueron comparables entre el evento acumulado MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 y los eventos que lo conforman (MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 y DAS-40278-9) para todas las proteínas expresadas.

El valor promedio del rango de contenido de cada proteína en el grano de maíz en los distintos tratamientos:

Cry 1A.105: 4,97 ng/mg grano seco.

Cry2Ab.2: 3,27 ng/mg grano seco.

Cry1F: 2,35 ng/mg grano seco.

CP4 EPSPS: 8,18 ng/mg grano seco.

PAT: ND (no detectado).

AAAD-1: 3,06 ng/mg grano seco.

4 – Análisis Composicional

El solicitante presentó información acerca del análisis composicional realizado sobre grano y forraje del maíz DAS-40278-9 (sin pulverizar, pulverizado con 2,4-D, quizalofop y con ambos herbicidas) para evaluar su equivalencia con la isolínea convencional.

Se realizaron ensayos en ocho localidades seleccionadas entre las mayores regiones de producción de maíz en Estados Unidos y Canadá. Las localidades representan regiones con distintas prácticas agronómicas y condiciones ambientales, en Estados Unidos, Iowa, Illinois (2), Indiana, Missouri (2), Nebraska y Pensilvania. Los dos sitios de ensayo sembrados en Ontario, Canadá, no pudieron ser evaluados debido a que el cultivo fue dañado por condiciones climáticas.

Con respecto al evento acumulado, se evaluó un estudio a campo en diez localidades representativas de Estados Unidos, con el fin de evaluar la composición de MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6xDAS-40278-9 (test), con y sin tratamiento herbicida, comparada con su isohíbrido convencional sin transformar (control). También se incluyeron como referencias el isohíbrido parental MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6, el isohíbrido DAS-40278-9, y 6 híbridos comerciales convencionales.

Para ambos eventos, los análisis composicionales de forraje incluyeron proximales (proteína, grasas, ceniza, humedad y carbohidratos) y fibras (detergente ácida- ADF- y detergente neutra -NDF- y minerales (calcio y fósforo) y del grano incluyeron proximales, ADF, NDF, fibra dietaria total (TDF), aminoácidos, ácidos grasos, minerales, vitaminas, anti-nutrientes y metabolitos secundarios.

Los estudios composicionales presentados tanto para el evento individual como el apilado evidencian que, si bien se encontraron algunas diferencias estadísticamente significativas en comparación con su contraparte convencional, estas diferencias no son consistentes en todos los tratamientos y/o todas las localidades. Además, los valores obtenidos para los eventos estuvieron dentro del rango de la literatura, por lo que las diferencias no fueron consideradas biológicamente relevantes.

El forraje y el grano derivados del maíz DAS-40278-9 y MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x DAS-40278-9 son composicionalmente equivalentes, y tan nutritivos como, el forraje y el grano del maíz convencional.

5 – Aptitud Nutricional

Los resultados del estudio de pollos parrilleros alimentados con granos de maíz DAS-40278-9 y MON-89034-3 x MON-00603-6 x DAS-01507-1 x DAS-40278-9 durante 42 días indican que las dietas formuladas con maíz DAS-40278-9 y MON-89034-3 x MON-00603-6 x DAS-01507-1 x DAS-40278-9 fueron tan saludables como las dietas formuladas con el material no GM y los maíces de referencia, y no se observaron efectos adversos sobre el crecimiento o salud de los animales en estudio ni diferencias toxicológicas significativas.

6 – Alergenicidad

El potencial alergénico de cada proteína se evaluó comparando las características de las proteínas expresadas con características de alérgenos conocidos; las proteínas expresadas por el evento MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 han sido evaluadas y consideradas no alergénicas.

Con respecto a la proteína expresada por el evento DAS-40278-9:

- *Origen de la proteína:* las especies dadoras no presentan características alergénicas conocidas.
- *Similitud estructural:* la proteína expresada no presenta ninguna homología estructural respecto a los alérgenos conocidos.
- *Peso molecular:* la proteína presenta un bajo peso.
- *Resistencia al procesamiento:* cuando la proteína fue expuesta a condiciones de temperatura de 50-95°C a presión ambiental, ésta perdió el 99% de su inmunoactividad.
- *Digestibilidad in Vitro:* La proteína es rápidamente digerida en fluidos gástricos simulados.

De acuerdo a la evidencia evaluada, se concluye que es altamente improbable que los eventos evaluados expresen alérgenos.

7 – Toxicidad

Los análisis moleculares no evidenciaron potenciales marcos abiertos de lectura producto de la inserción del constructo, por lo que los análisis de toxicidad se realizaron sobre las proteínas expresadas en el maíz MON-89034-3 x MON-00603-6 x DAS-01507-1 x DAS-40278-9. Las proteínas expresadas por el evento MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 han sido evaluadas y consideradas no tóxicas.

Con respecto a la proteína expresada por el evento DAS-40278-9:

- *Origen de la proteína:* Las especies dadoras no presentan características tóxicas conocidas.
- *Historia de uso seguro:* El organismo donante del gen que codifica la proteína AAD1, *Sphingobium herbicidovorans*, es una bacteria del suelo con historia de uso seguro.
- *Evaluación de la similitud de los productos de expresión con toxinas conocidas a través de estudios bioinformáticos:* los resultados demostraron que la proteína AAD-1 no presenta homología estructural con respecto a las proteínas tóxicas conocidas.
- *Estudio de toxicidad oral aguda en mamíferos (ratones):* En ningún caso se observaron efectos clínicos relacionados con el tratamiento ni efectos tóxicos significativos. Los resultados confirman la ausencia de toxicidad aguda de la proteína AAD-1 en mamíferos.

Por lo expuesto se concluye que es altamente improbable que los eventos evaluados presenten riesgos toxicológicos para humanos y animales.

8 – Interacciones metabólicas

El evento acumulado MON-89034-3 x MON-00603-6 x DAS-01507-1 x DAS-40278-9 fue obtenido por cruzamiento convencional de los eventos parentales MON-89034-3 x MON-00603-6 x DAS-01507-1 y DAS-40278-9. Según la evidencia presentada no hay hipótesis plausible que indique la posibilidad de interacciones entre las proteínas de nueva expresión.

9 – Conclusión

Luego de haber realizado la evaluación completa de riesgo alimentario a la información suministrada por la empresa Dow AgroSciences Argentina S.A. y teniendo en cuenta que:

- Los estudios de caracterización molecular demuestran que el inserto se encuentra en una sola copia y se ha mantenido de forma estable en el genoma de la planta luego de varias generaciones.
- 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.

Se concluye que los eventos de maíz evaluados son sustancialmente equivalentes a sus contrapartes convencionales, por lo tanto, tan seguros y no menos nutritivo 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 del evento de maíz **DAS-40278-9, MON-89034-3 x MON-00603-6 x DAS-01507-1 x DAS-40278-9** y **todas sus combinaciones intermedias**.

10 – Normativa y recomendaciones

- Resolución SENASA N° 412/02.
- Resolución MAGyP N° 763/2011.
- 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).
- Base de datos ILSI 2007.
- Base de datos de Alérgenos (FARRP database).

29 de Noviembre de 2017



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