

Para: Comité de Articulación Institucional (CAI) y Evaluación del Riesgo en Bioseguridad (ERB).

De: Grupo ad-hoc sobre caracterización e identificación molecular (GAHCIM).

Asunto: Informe GAHCIM Maíz eventos apilados MON 87427 × MON 89034 × MON810 × MIR162 × MON87411 × MON87419, investigación, INASE y comercial

Fecha: 18 de mayo de 2021

Participaron en la elaboración del informe:

El Grupo GAHCIM se reunió en Talleres de Trabajo convocados por la ERB, los días 4 de Mayo, 22 de Junio, y 7 de Setiembre de 2018 en MGAP; y la reunión virtual del 18 de mayo de 2021.

Participaron de los diferentes talleres evaluadores de las siguientes instituciones del CAI: IIBCE, MGAP, INASE, LATITUD/LATU, INIA e IP-Montevideo. La información y CV de los evaluadores se encuentra disponible en la Oficina de Bioseguridad.

Fecha 07/09/2018

Informe grupo GAHCIM

Se analizó cada evento individual que compone el apilado con énfasis en los que no habían sido evaluados anteriormente (eventos MON 87427, MON 87411 y MON87419) y en las interacciones de los genes insertados de los 6 eventos combinados basado en el análisis de las vías metabólicas involucradas. La caracterización molecular mediante amplificación y secuenciación de los insertos, correspondientes a los eventos individuales, así como las secuencias flanqueantes, señaló que todos se encuentran presentes e intactos en el maíz apilado (Robinson y Silvanovich., 2017) y determina que no existen nuevos rearrreglos del genoma original en el sitio de inserción.

El evento MON 87427, presenta tolerancia a herbicidas a base de glifosato tejido-selectiva y para ser empleada como línea parental femenina durante la producción de semillas híbridas. Se presentó información de *Southern* que demuestra la estabilidad hasta la quinta generación.

El evento MON 87411, expresa la enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (CP4 EPSPS) derivada de *Agrobacterium* sp. cepa CP4 que otorga tolerancia a herbicidas a base de glifosato, y la proteína coleopterida Cry3Bb1 derivada *B. thuringiensis* subsp. *kumamotoensis* que otorga protección frente a ciertos coleópteros de la familia *Chrysomelidae*. También expresa una secuencia con repeticiones invertidas derivada de *Diabrotica virgifera virgifera*. La expresión de esta secuencia da como resultado la formación de un transcrito de ARN que contiene dos copias de una porción del gen Snf7 de *D. virgifera* en dirección invertida, que permite que este ARN DvSnf7 forme una estructura secundaria de tipo horquilla con la región DvSnf7 como doble cadena (ARNdc DvSnf7) desencadenando el silenciamiento génico de un gen vital.

Para caracterizar el número de inserciones del vector de transformación y la estabilidad del inserto se realizó un análisis bioinformático de datos generados por NGS/JSA de todo el genoma. Los datos obtenidos indican que se insertó una sola copia del vector PV-ZMIR10871 en un solo locus y que no incluye la secuencia *backbone* del plásmido. El análisis de estabilidad generacional por mapeo de secuencia y NGS / JSA demostró que el inserto en MON 87411 se ha mantenido a través de cinco generaciones (Carleton et

al., 2014). En el análisis bioinformático (Hileman y Silvanovich 2016b) no se encontraron elementos de preocupación. Los resultados indican que no hay similitudes biológicamente relevantes entre las proteínas CP4 EPSPS y Cry3Bb1 y alérgenos, toxinas o proteínas biológicamente activas asociadas con efectos adversos a la salud animal o humana, así como tampoco se interrumpen genes endógenos de maíz.

El evento MON 87419, expresa la proteína dicamba mono-oxygenasa (DMO) derivada de *Stenotrophomonas maltophilia* la cual otorga el fenotipo de tolerancia a herbicidas a base de dicamba (ácido 3,6-dicloro-2-metoxi benzoico) y la proteína Fosfinotricina Acetil-transferasa (PAT) derivada de *Streptomyces viridochromogenes* que confiere tolerancia a herbicidas a base de glufosinato. En cuanto a estabilidad está realizado por secuenciación en Garnaat et al. (2104) describiendo la técnica en la quinta generación. El análisis informático fue conducido por Hileman y Silvanovich en el año 2016 y no se encontraron elementos de preocupación. Los resultados indican que no hay similitudes biológicamente relevantes entre las proteínas DMO y PAT y alérgenos, toxinas o proteínas biológicamente activas asociadas con efectos adversos a la salud animal o humana.

En cuanto a las relaciones en vías metabólicas, las proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1Ab, Vip3Aa20 y Cry3Bb1 confieren al maíz protección contra el ataque de ciertos insectos lepidópteros y coleópteros. Las proteínas Cry son entomotoxinas, no tienen actividad enzimática ni participan de rutas metabólicas en las plantas donde han sido expresadas. La expresión de un cassette de supresión que genera ARN de doble cadena (ARNdc), denominado ARNdc DvSnf7, también ejerce su modo de acción al ser ingerido por el insecto blanco, desencadenando el silenciamiento de un gen vital del insecto, a través de un mecanismo de interferencia mediada por ARN (ARNi).

Fecha 18/05/2021

Se analiza la información presentada por la empresa sobre la evaluación bioinformática, utilizando las bases de datos de alérgenos y toxinas actualizadas a 2019.

Los estudios indican que para los eventos MON 87411, MON 87419 y MON 87427 no se observaron similitudes de secuencia biológicamente relevantes entre los seis marcos de lectura traducidos del ADN-T y los alérgenos, toxinas o proteínas biológicamente activas asociadas con efectos adversos para la salud humana o animal (base de datos actualizadas a 2019).

El grupo GAHCIM no identifica riesgos significativos para ensayos de Investigación/INASE o liberación Comercial del evento de Maíz MON 87427 × MON 89034 × MON810 × MIR162 × MON87411 × MON87419.
