



Ministerio de Víveres,
Ordenamiento Territorial
y Medio Ambiente.



ANEXO 1 Resumen no confidencial para informar a la ciudadanía.

Brinde un resumen de la solicitud de autorización con información no confidencial para ser utilizado en la instancia de información y consulta pública.

- 1. Solicitante (nombre, domicilio):** Monsanto Uruguay S.A. Ituzaingó 1324 of. 803, Montevideo
- 2. Representante Legal del Solicitante (nombre, domicilio):** César Aroztegui, Ituzaingó 1324 of. 803, Montevideo
- 3. Responsable Técnico del Solicitante (nombre, domicilio):** Marcos Carrera, Ituzaingó 1324 of. 803, Montevideo
- 4. OVGM objeto de la presente solicitud.**
 - a. Nombre científico:** *Zea mays subsp. mays (L).*
 - b. Nombre común:** Maíz
 - c. Evento/Eventos apilados:** MON 87427 × MON 89034 × MON810 × MIR162 × MON87411 × MON87419 (Identificador OECD: MON-87427-7 × MON-89034-3 × MON-00810-6 × SYN-IR162-4 × MON-87411-9 × MON-87419-8).
 - d. Característica/s introducidas (indicar el producto de la expresión génica y el mecanismo involucrado en la generación del fenotipo deseado, especificar si la/s características introducidas se manifiestan en etapas puntuales del desarrollo y/o en tejidos específicos del vegetal):**

El maíz portador de los eventos apilados MON 87427 × MON 89034 × MON810 × MIR162 × MON87411 × MON87419 se generó mediante cruzamiento convencional de los maíces portadores de los eventos individuales. Este maíz combina las características de protección frente al ataque de ciertos insectos lepidópteros (tales como *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa zea* y *Diatraea saccharalis*) y coleópteros (como especies del género *Diabrotica*) y de tolerancia a la aplicación de herbicidas a base de glifosato, dicamba y glufosinato.

-Evento MON 87427: expresa la proteína 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (CP4 EPSPS) derivada de *Agrobacterium* sp. cepa CP4, la cual otorga el fenotipo de tolerancia a herbicidas a base de glifosato tejido-selectiva. La proteína CP4 EPSPS no se expresa en los tejidos reproductivos masculinos confiriendo así el fenotipo de androesterilidad que es inducido por la aplicación de herbicidas a base de glifosato. El evento MON 87427 será utilizado por las empresas semilleras (Monsanto y/o licenciatarios autorizados), por sí solo o acumulado con otros eventos biotecnológicos sin tolerancia al glifosato, como línea parental femenina durante la producción de semillas híbridas, siendo su principal ventaja facilitar los procedimientos involucrados en la producción de semilla híbrida de maíz.

-Evento MON 89034: expresa las proteínas lepidopterocidas Cry1A.105 y Cry2Ab2. La proteína Cry1A.105 es una versión modificada de la proteína Cry1A de *B. thuringiensis* y la Cry2Ab2 es una proteína derivada de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*.



Ministerio de Víctimas
Ordenamiento Territorial
y Medio Ambiente



-Evento MON 810: expresa las proteínas lepidopteridas Cry1Ab es una proteína derivada de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*. Dicha característica se manifiesta en todos los tejidos y estados de desarrollo de la planta.

-Evento MIR162: expresa la proteína Vip3Aa20 de *B. thuringiensis* que otorga protección frente al ataque de ciertos lepidópteros plaga y la enzima manosa-6-fosfato isomerasa (PMI) de *Escherichia coli* que se utilizó como marcador de selección en la transformación de plantas. Dicha característica se manifiesta en todos los tejidos y estados de desarrollo de la planta

-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* (conocido en Estados Unidos como “gusano occidental de la raíz del maíz”). La expresión de esta secuencia da como resultado la formación de un transcripto de ARN que contiene dos copias de una porción del gen *Snf7* de *D. virgifera* en dirección invertida, lo cual permite que este ARN DvSnf7 forme una estructura secundaria de tipo horquilla con la región DvSnf7 como doble cadena (ARNdc DvSnf7). Este ARNdc ejerce su modo de acción al ser ingerido por el insecto blanco, desencadenando en él el silenciamiento génico de un gen vital, a través de un mecanismo de interferencia mediada por ARN (ARNi). Dichas características se manifiestan en todos los tejidos y estados de desarrollo de la planta.

-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. Dichas características se manifiestan en todos los tejidos y estados de desarrollo de la planta.

Las vías metabólicas de los productos de expresión del maíz MON 87427 × MON 89034 × MON810 × MIR162 × MON87411 × MON87419 se detalla a continuación:

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 y no tienen actividad enzimática ni participan de rutas metabólicas en las plantas donde han sido expresadas. Cuando los insectos se alimentan del maíz, ingieren las proteínas junto con el tejido vegetal. Las proteínas Cry se unen a receptores específicos presentes en la membrana apical de las células epiteliales del intestino medio de los insectos susceptibles e inducen la muerte celular al formar los poros iónicos luego de insertarse en la membrana, causando la lisis osmótica de las células epiteliales del intestino medio en los insectos blanco.

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). Como se describirá en detalle a lo largo de esta solicitud,



Ministerio de Víveres,
Ordenamiento Territorial
y Medio Ambiente.



el espectro de actividad de esta secuencia es extremadamente estrecho, estando acotado a la subfamilia *Galerucinae* de la familia *Chrysomelidae*, en el orden *Coleoptera*, familia a la cual pertenece el género *Diabrotica*.

La enzima PMI (proteína de origen bacteriano) permite el pasaje de manosa-6-fosfato a fructosa-6-fosfato involucrada en la ruta metabólica relacionada con la glucólisis y se utilizó como marcador de selección en la transformación de plantas.

La enzima EPSPS se encuentra involucrada en la ruta biosintética del shiquimato al corismato, el cual es sustrato para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos y otros metabolitos en plantas y microorganismos. En las plantas convencionales, el glifosato inhibe la actividad de la EPSPS endógena, por lo cual las plantas rociadas con ese herbicida ya no pueden sintetizar los aminoácidos esenciales. La enzima CP4 EPSPS posee una estructura similar y la misma función que las enzimas EPSPS endógenas de las plantas (donde tienen ubicación cloroplástica), pero a diferencia de éstas posee una afinidad reducida por el glifosato, por lo que es capaz de conservar su actividad enzimática en presencia del herbicida.

La proteína DMO (dicamba mono-oxigenasa) es una enzima que cataliza la desmetilación del herbicida dicamba convirtiéndolo en ácido 3,6-dicloro salicílico (DCSA), un compuesto sin actividad herbicida, y formaldehído. DMO es una oxigenasa que forma parte de un sistema de tres componentes integrado por una reductasa, una ferredoxina y una oxigenasa terminal que, en este caso, es DMO. Estas tres enzimas actúan juntas en un sistema redox en el cloroplasto para transportar electrones desde una molécula de nicotinamida adenina dinucleótido (en su forma reducida, NADH) hasta oxígeno, y poder catalizar así una desmetilación, en este caso la desmetilación de la molécula de dicamba.

La proteína PAT inhibe la glutamino-sintetasa (GS), que es responsable de la síntesis del aminoácido glutamina a partir de ácido glutámico y amoníaco. La enzima PAT es una acetiltransferasa que metaboliza el glufosinato para producir N-acetil glufosinato sin capacidad herbicida.

En base al conocimiento de los mecanismos de acción, no se espera que la enzima CP4 EPSPS, DMO y PAT (proteínas con acción herbicida) y la enzima PMI (proteína de origen bacteriano utilizada como marcador de selección en plantas) interactúen entre sí, ni tampoco con los productos de expresión que confieren actividad insecticida (proteínas Cry, Vip, y ARN DvSnf7), cuando se encuentren combinadas en un evento apilado como MON 87427 × MON 89034 × MON810 × MIR162 × MON87411 × MON87419 ya que presentan blancos y modos de acción diferente y/o se encuentran involucrados en rutas metabólicas distintas. Por otro lado, tampoco se plantean hipótesis de interacción entre las proteínas insecticidas contra Lepidópteros (Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1Ab y Vip3Aa20) y la proteína insecticida contra Coleópteros (Cry3Bb1) ya que sus actividades son ejercidas por un mecanismo de acción específico de reconocimiento de receptores en las células intestinales de los insectos blanco. Existen muchos eventos biotecnológicos aprobados comercialmente a nivel mundial que expresan combinaciones de estas proteínas los cuales representan un historial de uso seguro de estas proteínas en los cultivos agronómicos.

5. Tipo de liberación solicitada.

A7.2.1 Pruebas y ensayos a campo para investigación.



Ministerio de Vivir
Sosteniblemente Mejor
y Medio Ambiente.



6. Indicar si es una solicitud nueva o reiteración (incluir n° expediente):

La presente solicitud del apilado de eventos MON 87427 × MON 89034 × MON810 × MIR162 × MON87411 × MON87419 corresponde a una nueva solicitud de evaluación.

7. Descripción del objetivo del ensayo o liberación comercial e indicar cuál será el uso del OVG:

El objetivo es la liberación a escala de campo en condiciones controladas (pruebas y ensayos a campo para investigación).

8. Historia de Uso y Familiaridad de los genes o secuencias introducidas en el mismo u otros cultivos¹:

El maíz MON 87427 × MON 89034 × MON 810 × MIR 162 × MON 87411 × MON 87419 fue obtenido por cruzamiento convencional de los eventos individuales y contiene los genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *Cry1Ab*, *Vip3Aa20*, *cry3Bb1*, *ARN DvSnf7*, *pmi* (o *manA*), *cp4 epsps*, *dmo* y *pat*. Los productos de expresión de dichos genes, han sido evaluados y los eventos que los expresan han sido aprobados comercialmente por diferentes agencias regulatorias en el mundo.

Las proteínas Cry poseen una amplia historia de uso seguro como ingredientes activos en pesticidas microbianos a base de *Bacillus thuringiensis* desde hace más de 50 años, como también en el uso de alimentos derivados de cultivos Bt (cultivos que expresan proteínas provenientes de *Bacillus thuringiensis*) disponibles en el mercado desde hace casi dos décadas. Su seguridad para consumo humano y animal ha sido puesta de manifiesto en numerosos estudios toxicológicos. En particular, los genes *cry1A.105*, *cry2Ab2*, *Cry1Ab* y *cry3Bb1* que expresan las proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1Ab y Cry3Bb1 respectivamente, se encuentran presentes en distintos productos biotecnológicos que han sido aprobados comercialmente por diferentes agencias regulatorias a nivel mundial.

El producto de expresión de ARNdc *DvSnf7*, al ser ingerido por el insecto, activa el mecanismo del ARN de interferencia (ARNi) en el mismo. Prácticamente todos los organismos eucariotas (incluyendo hongos, plantas y animales de consumo alimentario) utilizan el mecanismo de ARNi mediado por pequeños ARN (entre ellos el ARNdc) para regular la expresión génica. Además, es posible encontrar en las células, distintas estructuras secundarias de ARNdc en moléculas como los ARN ribosomales, los ARN de transferencia, y algunos ARN mensajeros. Entre las distintas clases de moléculas de ARN normalmente consumidas, existen algunas que han demostrado tener perfecta o casi perfecta complementariedad con genes vitales humanos y de otros mamíferos. Estos ARN, tan similares a genes que codifican para proteínas con funciones vitales en mamíferos, son abundantes en los alimentos (por ejemplo: soja, maíz y arroz) y, de manera habitual, son consumidos de modo seguro. Varios productos vegetales derivados de la biotecnología que utilizan mecanismos de supresión basados en ARN (ARNi) han sido evaluados y autorizados por diferentes agencias regulatorias internacionales, incluyendo: soja con alto contenido de ácido oleico (MON 87705, G94-1, G94 19, G-168, DP-305423), calabacín resistente a virus (CZW-3), papaya resistente a virus (55 1, 63-1, X17-2), tomates de maduración lenta (CGN-89564-2), ciruelos resistentes al virus pox de la ciruela (ARS-PLMC5-6). Por otro lado, el evento MON 87411 también cuenta con



diferentes aprobaciones por parte de las agencias regulatorias de Australia, Nueva Zelanda, Canadá, Taiwán, Japón, Corea, México y Estados Unidos. El consumo de ácidos nucleicos introducidos en cultivos derivados de la biotecnología puede considerarse seguro en base a los siguientes aspectos: (1) los ácidos nucleicos son considerados GRAS (siglas del inglés *Generally Recognized As Safe*: generalmente reconocido como seguro) por lo que no representan un riesgo para la seguridad alimentaria; (2) el amplio historial de consumo seguro de los ácidos nucleicos, incluyendo moléculas cortas y largas de ARN con 100% de identidad con transcritos humanos; (3) todos los alérgenos conocidos presentes en los alimentos son proteínas; (4) existen una gran cantidad de barreras fisiológicas y bioquímicas que limitan la incorporación de los ARNdc a partir de la dieta y; (5) no hay evidencia que indique que el consumo de ARN en la dieta se encuentre asociado con toxicidad o alergenicidad. En conclusión, el conjunto de evidencias disponibles a la fecha, señala que el consumo de ARN presenta un largo historial de consumo seguro. Numerosos ARNdc, se encuentran normalmente presentes en la dieta y son habitualmente ingeridos por los seres humanos y animales. Por lo tanto, la introducción de nuevos eventos biotecnológicos que utilizan mecanismos de ARNi no presentaría riesgos novedosos para la seguridad alimentaria.

El gen *dmo* que expresa la proteína DMO ha sido aislado de una bacteria ampliamente distribuida en el ambiente y asociada con los cultivos y alimentos en general, *Stenotrophomonas maltophilia*. Además, presenta alta homología estructural y funcional con enzimas que cumplen funciones similares en especies vegetales históricamente consumidas como alimento, lo cual es indicador del historial de uso y familiaridad de consumo de esta proteína. Asimismo, la proteína DMO ha sido evaluada y aprobada en Uruguay en el contexto de la soja MON 87708 × MON 89788 por Res. GNBio N° 76/2017 con fecha 15 de diciembre de 2017.

La proteína CP4 EPSPS expresada en los eventos individuales MON 87427 y MON 87411, y consecuentemente en la acumulación de eventos de maíz MON 87427 × MON 89034 × MON 810 × MIR 162 × MON 87411 × MON 87419 es estructural y funcionalmente similar a la proteína EPSPS naturalmente presente en las plantas (incluyendo cultivos agronómicos como soja y maíz) e inclusive en microorganismos utilizados en la industria alimenticia (como la levadura de panadería, *Saccharomyces cerevisiae*) que cuentan con un largo historial de uso seguro. La similitud que presenta la proteína CP4 EPSPS con las proteínas EPSPS naturalmente presentes en una variedad de alimentos ampliamente consumidos a lo largo de la historia apoyan la conclusión que la proteína CP4 EPSPS no posee riesgos para la salud humana o animal. Asimismo, la proteína CP4 EPSPS está presente en varios eventos biotecnológicos que cuentan con una larga historia de uso seguro tanto en Uruguay como a nivel mundial (ISAAA, 2018). Entre ellos se encuentran: el evento de maíz NK603 (Res. GNBio N°30/2011), la acumulación de eventos MON 810 × NK603 (Res. GNBio N°31/2011), la acumulación de eventos MON 89034 × TC1507 × NK603 (Res. N° GNBio N°49/2012) y la acumulación de eventos MON 89034 × MON 88017 (Res. N° GNBio N°72/2017). Por otro lado, se encuentran los eventos en soja GTS 40-3-2 (aprobado en Uruguay en 1996), la acumulación de eventos MON 87701 × MON 89788 (Res. GNBio N°50/2011) y la acumulación de eventos MON 87708 × MON 89788 (Res. GNBio N°76/2017). A nivel global diversos cultivos biotecnológicos que expresan la proteína CP4 EPSPS han sido cultivados en más de 500 millones



Ministerio de Víctimas
Ordenamiento Territorial
y Medio Ambiente.



de hectáreas y a la fecha, no se conocen reportes que indiquen efectos adversos sobre la salud humana o animal.

El gen *pat* que expresa la proteína PAT ha sido introducido en diversos cultivos, y ha recibido numerosas autorizaciones previas, incluyendo su liberación comercial en soja en varios países como Uruguay (Res. GNBio N° 43 con fecha 19 de septiembre de 2012).

9. Inocuidad Alimentaria²:

La inocuidad alimentaria del maíz MON 87427 × MON 89034 × MON 810 × MIR 162 × MON 87411 × MON 87419 quedó demostrada a lo largo de la presente Solicitud por medio de la evaluación de riesgo correspondiente. En primer lugar, el organismo receptor (maíz) es un cultivo alimentario ampliamente conocido. En segundo lugar, los organismos dadores de los genes introducidos en este maíz, y que son los responsables de su fenotipo, son considerados inocuos para el ser humano y animales. Todas las proteínas han sido exhaustivamente estudiadas en cuanto a sus características físico-bioquímicas, modos de acción, falta de alergenicidad y toxicidad, corroborándose la seguridad de las mismas. Además, se pudo concluir que no hay evidencias que indiquen que la aptitud alimentaria, que comprende la inocuidad y calidad nutricional, del maíz MON 87427 × MON 89034 × MON 810 × MIR 162 × MON 87411 × MON 87419 haya sido alterada con respecto al maíz convencional. Se concluye en base al peso de la evidencia provisto que no se plantean hipótesis de riesgo que requieran estudios adicionales asociadas a la aptitud nutricional del maíz MON 87427 × MON 89034 × MON 810 × MIR 162 × MON 87411 × MON 87419 tanto para animales como para humanos y por lo tanto, se puede concluir que dicho producto apilado es tan seguro como los eventos individuales y equivalente con la contraparte convencional.

10. Identificación y descripción de posibles efectos sobre el ambiente³:

El maíz portador del apilado de eventos MON 87427 × MON 89034 × MON 810 × MIR 162 × MON 87411 × MON 87419 carece del potencial de convertirse en una especie invasora o maleza, carece de especies sexualmente compatibles en Uruguay. Además, se pudo concluir que el maíz MON 87427 × MON 89034 × MON 810 × MIR 162 × MON 87411 × MON 87419 es equivalente a las variedades convencionales de maíz en lo que respecta a sus características agronómicas, fenotípicas y de interacciones ambientales, incluyendo la misma respuesta a estrés bióticos y abióticos, con excepción de los fenotipos de protección contra insectos y de tolerancia a dicamba, glifosato y glufosinato que son la intención de las transformaciones genéticas.

¹ Incluir número total de autorizaciones y/o rechazos en otros países y tipo de liberaciones, indicar si hubo algún efecto no deseado o no esperado (adverso o benéfico) en las liberaciones realizadas.

² Implica un resumen de la información presentada en el formulario sobre: toxicidad, alergenicidad, patogenicidad, cambios nutricionales y de composición, digestibilidad y productos de la digestión, estabilidad del gen y su producto en el alimento, destino de los genes y sus productos en el procesamiento de la materia prima, etc.

³ Implica un resumen de la información presentada en el formulario para determinar efectos sobre: biodiversidad, organismos no blanco, generación especie invasora/maleza, generación de protección (insectos/malezas).

Ministerio de Viviers,
Ordenamiento Territorial
y Medio Ambiente.

Además, el conjunto de la información presentada permite avalar la seguridad de las proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1Ab, Cry3Bb1, Vip3Aa20 y el producto ARN DvSnf7 expresados en el maíz MON 87427 × MON 89034 × MON 810 × MIR 162 × MON 87411 × MON 87419 en lo que respecta a la ausencia de efectos sobre especies no blanco.

El apilado de eventos de maíz MON 87427 × MON 89034 × MON 810 × MIR 162 × MON 87411 × MON 87419 presenta así la ventaja agronómica de facilitar el control de ciertas malezas por medio de tres principios activos diferentes, estrategia altamente recomendada para minimizar el desarrollo de biotipos de malezas resistentes, como también, la expresión conjunta de más de un modo de acción contra los lepidópteros plaga de maíz en Uruguay (tales como *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa zea* y *Diatraea saccharalis*), que brinda la ventaja de extender la durabilidad de la tecnología de maíz Bt.

11. Fecha de presentación de esta solicitud: febrero de 2018.

----fin anexo 1----