

RESUMEN DE LA SOLICITUD

MAÍZ BT11 × MZIR098 × DP4114 × NK603 CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Nombre del solicitante SYNGENTA S.A.	2. Nombre del contacto Victoria Eugenia Peña Julieta Sol Alonso Fabeiro
3. Dirección del solicitante Calle 116 # 7-15, Oficina 601B Edificio CUSEZAR Bogotá D.C. Teléfono: (601) 6538777	4. Dirección del contacto Calle 116 # 7-15, Oficina 601B Edificio CUSEZAR Bogotá D.C. Teléfono: (601) 6538777
5. Nombre del producto (Identificador Único y otros nombres) Identificador OECD SYN-BTØ11-1 x SYN-ØØØ98-3 x DP-ØØ4114-3 x MON-ØØ6Ø3-6 Otros Nombres BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603	
6. Objetivo de la solicitud Autorización de uso del maíz BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
7. Aprobaciones y usos en otros países Los eventos por separado de maíz están aprobados para uso como consumo animal y siembra en: El evento BT11 Está aprobado en Argentina, Australia, Brasil, Canadá, China, Colombia, Indonesia, Japón, Malasia, México, Nueva Zelanda, Nigeria, Paraguay, Filipinas, Rusia, Sur África, Sur Corea, Suiza, Taiwán, Tailandia, Turquía, Estados Unidos, Uruguay, Vietnam. El evento MZIR098 Está aprobado en Australia, Brasil, Canadá, Colombia, Japón, Malasia, Nueva Zelanda, Filipinas, Singapur, Taiwán, Tailandia, Estados Unidos. El evento DP4114 Está aprobado en Australia, Brasil, Canadá, China, Colombia, Indonesia, Japón, Malasia, México, Nueva Zelanda, Reino unido, Filipinas, Sur África, Sur Corea, Nueva Zelanda, Taiwán, Tailandia, Estados Unidos, Vietnam.	

El evento NK603

Está aprobado en Argentina, Australia, Brasil, Canadá, China, Colombia, Cuba, Honduras, Indonesia, Irán, Japón, Malasia, México, Nueva Zelanda, Nigeria, Pakistán, Paraguay, Filipinas, Rusia, Singapur, Sur África, Sur Corea, Taiwán, Tailandia, Turquía, Estados Unidos, Uruguay, Vietnam.

Eventos apilados aprobados para uso como consumo animal y siembra

BT11 x MIR162: Argentina, Brasil, Colombia, Unión Europea, Japón, México, Filipinas, Singapur, Sur África, Sur Corea, Taiwán, Tailandia.

BT11 x MIR162 x MIR604 x TC1507: Brasil.

BT11 x MIR162 x NK603: Brasil y Argentina.

BT11 x TC1507: Brasil y Argentina.

MIR162 x NK603: Brasil y Argentina.

MIR162 x TC1507: Brasil y Argentina.

TC1507 x MIR162 x NK603: Brasil, Argentina, México.

TC1507 x NK603 Argentina, Brasil, Canadá, Colombia, Unión Europea, Honduras, Irán, Japón, México, Pakistán, Filipinas, Sur África, Sur Corea, Taiwán, Turquía, Uruguay.

8. Algún otro uso aprobado en Colombia

El evento BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 aún no tiene aprobación de uso en el país, sin embargo, todos los eventos individuales y algunas sub-combinaciones ya se encuentran aprobadas para su uso en Colombia.

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL ORGANISMO VIVO MODIFICADO -OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores:

Organismo receptor:

Nombre Común Maíz

Nombre Científico *Zea mays* L.

Familia *Gramineae*

Subfamilia *Panicoideae*

Tribu *Maydeae*

Género *Zea*

Especie *Zea mays*

Organismo(s) donante(s):

Evento BT11: *Bacillus thuringiensis*, *Streptomyces viridochromogenes*.

Evento MZIR098 *Bacillus thuringiensis* subsp. *Tenebrionis*, *Virus mosaico coliflor*, *Cestrum yellow leaf curling virus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Streptomyces viridochromogenes*.

Evento DP4114: *Bacillus thuringiensis* var. *Aizawai*; *Virus mosaico coliflor*; *Bacillus thuringiensis*; *Streptomyces viridochromogenes*.

Evento NK603: *Agrobacterium tumefaciens*.

2. Descripción de la modificación genética

Las plantas de maíz provenientes del evento BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 presentan tolerancia al ataque de un rango de insectos del orden Lepidóptera, tolerancia al ataque de ciertos insectos coleópteros y presenta tolerancia a los herbicidas con los i.a. glifosato y glufosinato de amonio.

La línea del maíz BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 se logró por fitomejoramiento convencional a través del cruzamiento de líneas portadoras de los eventos BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603.

Los métodos de transformación utilizados en los eventos individuales fueron:

Evento BT11

El maíz BT11 fue desarrollado a través de transferencia directa de la construcción genética a protoplastos de línea H8540 y regeneración en medio selectivo. Individuos de la línea portadora del evento seleccionado fueron cruzados y retrocruzados con líneas élite de maíz corporativas para asegurar su presencia en las líneas élite. -Gen cry1Ab El producto del gen cry1Ab es una forma truncada de una proteína δ -endotoxina.

La proteína Cry1Ab es cortada proteolíticamente en el intestino alcalino de los insectos Lepidópteros resultando en una forma insecticida activa. La proteína insecticida activa interactúa con una molécula receptora presente solamente en las células del epitelio del intestino medio de los insectos susceptibles, provocando poros en las membranas de las células.

Como resultado, el balance osmótico celular es perturbado, las células se hinchan y sufren lisis. Las larvas de los insectos susceptibles cesan de comer y mueren. -Gen pat El gen pat codifica para la enzima fosfinotricina-N-acetil transferasa (PAT), aislado del microorganismo del suelo *Streptomyces viridochromogenes* cepa Tu494 (Strauch et al., 1988).

La enzima PAT ha sido usada como un marcador de selección permitiendo la identificación de células vegetales transformadas, así como la fuente de tolerancia al i.a. glufosinato de amonio (o fosfinotricina), ingrediente activo de herbicidas como Basta, Liberty o Fínale. El glufosinato de amonio actúa inhibiendo la enzima vegetal glutamina sintasa, una proteína encargada de detoxificar el amonio, mediante su incorporación al aminoácido glutamina.

La inhibición de esta enzima conduce a la acumulación de amonio en los tejidos vegetales y causa la muerte de estos. La enzima PAT cataliza la acetilación del i.a. glufosinato de amonio, convirtiéndolo en un compuesto inactivo, detoxificando los tejidos vegetales del mismo.

Evento MZIR098

La transformación del maíz de Syngenta Evento MZIR098 que expresa las proteínas *ecry3.1Ab*, *mcry3A* y *pat-08*, fue obtenida usando embriones inmaduros de maíz derivados de una línea de maíz endogámica NP2222 de Syngenta mediada por transformación de *Agrobacterium*, como lo describen Negrotto et al. (2000).

El maíz MZIR098 posee en un mismo inserto y locus del genoma los genes *ecry3.1Ab*, *mcry3A* y *pat-08* que codifican para las proteínas *ecry3.1Ab*, *mcry3A* y *PAT* que proporciona modos duales de acción para el control de ciertos coleópteros comedores de raíz del maíz (*Diabrotica spp.*) y le confiere tolerancia al glufosinato de amonio en productos herbicidas.

Evento DP4114

Las plantas de maíz derivadas del evento DP4114 contienen los transgenes *cry34Ab1*, *cry35Ab1* y *cry1F* que codifican las proteínas insecticidas *Cry34Ab1* y *Cry35Ab1* y *Cry1F*, respectivamente. Las proteínas *Cry34Ab1* y *Cry35Ab1* son activas contra determinadas plagas de insectos coleópteros.

La proteína *Cry1F* es activa contra determinadas plagas de insectos lepidópteros. El maíz DP4114 proporciona tolerancia al glufosinato de amonio mediante la expresión de la proteína *PAT*. El evento individual se obtuvo mediante transformación mediada por *A. tumefaciens* empleando el vector PHP27118.

Dicho vector contiene un ADN de transferencia (ADN-T) el cual se compone de 4 casetes de expresión. El primer casete contiene el gen *cry34Ab1*; el segundo contiene el gen de interés *Cry1F*; el tercero contiene el gen *cry35Ab1*; y el cuarto contiene el gen *pat*.

Evento NK603

Las plantas de maíz derivadas del evento NK603 contienen el transgén *cp4 epsps*. El transgén *cp4 epsps* codifica la proteína 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) derivada de *Agrobacterium sp.* cepa CP4. El CP4 EPSPS confiere tolerancia al glifosato.

Producido a través de transformación por bombardeo de micropartículas, en donde partículas de oro o tungsteno fueron recubiertas del material genético del vector binario PV-ZMGT32, el cual contiene el gen de interés *cp4 epsps* regulado por el promotor 1 de la actina del arroz (*pRACT*)T-NO y el terminador nopalina sintasa de *A. tumefaciens* (T-NOS). La información referente a este evento es propiedad de Bayer, compañía la cual nos ha autorizado citar la información para lograr la aprobación de este evento apilado que contiene el evento NK603 de su propiedad.

C. Información relacionada con la modificación genética

1.Método usado para transformar la planta

Cruzamiento convencional de líneas portadoras de los eventos BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603.

2. Diferencias del evento y Cultivar convencional

Syngenta desarrolló el maíz BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 (*Zea mays* L.) combinando cuatro eventos de transformación individuales mediante mejoramiento convencional.

Este maíz de eventos apilados proporciona control frente a ciertas plagas de insectos lepidópteros del maíz y tolerancia a los herbicidas a base de glufosinato de amonio y glifosato.

La concentración de cada proteína transgénica en varios tejidos en múltiples etapas de crecimiento del híbrido de maíz BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 se comparó con las medidas en los híbridos de evento único del componente correspondiente Eventos BT11, MZIR098, DP4114 y NK603.

Las concentraciones medias de PAT para el híbrido de maíz BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 analizados fueron estadísticamente significativamente más altas que las de cada uno de los híbridos de evento único componentes BT11, DP4114 y MZIR098, excepto las hojas DP4114 V6 y DP4114 y MZIR098 R1.

Se esperaban concentraciones de PAT más altas, ya que el híbrido BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 expresa tres copias del gen pat, y los híbridos BT11, DP4114 y MZIR098 expresan cada uno una copia del gen pat.

Al comparar las concentraciones de Cry1Ab, Vip3Aa20, PMI, eCry3.1Ab, mCry3A, Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 y CP4 EPSPS en varios tipos de tejidos y etapas de crecimiento, se observaron quince diferencias estadísticamente significativas de ochenta y siete comparaciones estadísticas realizadas en este estudio.

Estas diferencias estadísticas no se consideran biológicamente significativas ya que los rangos cuantitativos observados en el maíz BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 se superpusieron con los rangos observados en los correspondientes híbridos de evento único o fueron más bajos que los eventos individuales.

Además, no se observaron tendencias entre los tipos de tejido o las etapas de crecimiento. Como era de esperar, las concentraciones de PAT observaron diferencias significativas debido a las múltiples copias del gen pat. En general, las concentraciones de Cry1Ab, Vip3Aa20, PMI, eCry3.1Ab, mCry3A, Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 y CP4 EPSPS en tejidos del híbrido de maíz BT11 x MZIR098 x DP4114 x NK603 fueron comparables a las del correspondiente.

Análisis composicional de grano y forraje del evento y comparación con maíz convencional

Se analizó el forraje en busca de proximales, fibra y minerales y el grano en busca de compuestos proximales, fibra, almidón, minerales, vitaminas, aminoácidos, ácidos grasos, metabolitos secundarios y antinutrientes.

En las comparaciones entre ubicaciones entre la prueba + TSH y el control, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los componentes del forraje. Los niveles medios de todos los componentes del forraje en la prueba +TSH

estuvieron dentro de los rangos para los híbridos de referencia y los rangos publicados en la base de datos AFSI.

De los 57 componentes cuantificables del grano que se compararon estadísticamente, los niveles de 41 componentes en la prueba + TSH no fueron significativamente diferentes de los niveles en el control.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de los componentes entre la prueba + TSH y el control para el almidón, tres minerales (calcio, fósforo y potasio), tres vitaminas (β -caroteno, piridoxina y tiamina), un aminoácido (ácido aspártico), cinco ácidos grasos (16:0 palmítico, 16:1 palmitoleico, 18:1 oleico, 18:3 linolénico y 22:0 behénico), dos metabolitos secundarios (inositol y ácido pcumárico) y un antinutriente (rafinosa).

Sin embargo, los niveles medios de todos los componentes cuantificables del grano en la prueba + TSH estuvieron dentro de los rangos para los híbridos de referencia y los rangos publicados en la base de datos AFSI.

Todos los componentes del forraje y la mayoría de los componentes del grano en la prueba + TSH no difirieron del control. Cuando se produjeron diferencias, los niveles medios en la prueba + TSH estuvieron dentro de los rangos considerados normales para el maíz convencional. Por lo tanto, la conclusión es que el forraje y el grano del maíz Bt11 $\times$ MZIR098 $\times$ DP4114 $\times$ NK603 no son materialmente diferentes en la composición de nutrientes de la del maíz convencional no transgénico.

3. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto

Análisis moleculares indican que el inserto se ha integrado de forma estable en el genoma de la planta de cada evento individual (BT11 $\times$ MZIR098 $\times$ DP4114 $\times$ NK603) que se utilizó para la producción del híbrido transgénico BT11 $\times$ MZIR098 $\times$ DP4114 $\times$ NK603.

En todos los análisis de Southern Blot, los patrones de hibridación de ADN para el maíz BT11 $\times$ MZIR098 $\times$ DP4114 $\times$ NK603 correspondieron a las bandas de hibridación observadas para los eventos individuales. Esto indicó que la integridad del inserto transgénico de cada evento individual se preservó durante el mejoramiento convencional para producir el maíz BT11 $\times$ MZIR098 $\times$ DP4114 $\times$ NK603.