

RESUMEN DE LA SOLICITUD: MAÍZ MZIR260 PARA CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Nombre del solicitante SYNGENTA S.A.	2. Nombre del contacto Catalina Santana
3. Dirección del solicitante Calle 116 # 7-15, Oficina 601B, Edificio CUSEZAR	4. Dirección del contacto Calle 116 # 7-15, Oficina 601B, Edificio CUSEZAR
5. Nombre del producto (Identificador Único y otros nombres) Identificador OECD: SYN-ØØ26Ø-3 Otros Nombres: MZIR260	
6. Objetivo de la solicitud Autorización de uso del Maíz MZIR260 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
7. Aprobaciones y usos en otros países El evento MZIR260 aún no posee autorizaciones, pero ha sido presentado en países como: Argentina, Australia, Brasil, China, Estados Unidos, Japón, Singapur, Tailandia, Unión Europea y Uruguay.	
8. Algún otro uso aprobado en Colombia: El evento MZIR260 aún no ha sido presentado para su evaluación en otros CTNs.	

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL ORGANISMO VIVO MODIFICADO - OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores: Organismo receptor Reino: Plantae Familia: <i>Gramineae</i> Género: <i>Panicoideae</i> Tribu: <i>Maydeae</i> Genero: <i>Zea</i> Especie: <i>Zea mays</i> Nombre común: Maíz

2. Descripción de la modificación genética:

El maíz MZIR260 posee en un mismo inserto y locus del genoma los genes eCry1Gb.1lg-03 y pmi-15 que codifican para las proteínas eCry1Gb.1lg y PMI, la primera tiene actividad para el control de ciertos insectos lepidópteros plaga del maíz y la segunda fue utilizada como marcador de selección.

eCry1Gb.1lg: es una proteína quimérica de 1169 aminoácidos, es derivada de la combinación de dos proteínas parentales Cry (Cry1Gb y Cry1lg) (Chae et al., 2022). Cry1Gb y Cry1lg se clonaron a partir de líneas aisladas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) y se caracterizaron mediante bioensayos. eCry1Gb.1lg se creó mediante la sustitución del tercer dominio de Cry1Gb por el tercer dominio de Cry1lg.

La proteína eCry1Gb.1lg tiene actividad insecticida altamente específica con un modo de acción similar al de otras proteínas Cry1: forma inclusiones cristalinas solubles en el intestino medio de plagas de insectos lepidópteros susceptibles. Luego 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 en aproximadamente la mitad aminoterminal de la misma.

El modo de acción de la proteína eCry1Gb.1lg, al igual que otras proteínas Cry1 bien caracterizadas, actúa uniéndose a receptores específicos en la superficie de las células epiteliales del intestino medio de las plagas objetivo. Luego, estas proteínas 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 (Schnepf et al., 1998).

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Método usado para transformar la planta:

La transformación del maíz MZIR260 que expresa las proteínas eCry1Gb.1lg y PMI, fue obtenida usando embriones inmaduros de maíz derivados de una línea de maíz de Syngenta y transformada por *Agrobacterium*.

2. Diferencias del evento y Cultivar convencional:

Se realizaron análisis composicionales en muestras de maíz MZIR260, la versión isogénica no transgénica cercana y seis variedades de maíz de referencia, sembradas en 11 localidades de USA. Se cultivaron tres de los seis híbridos de referencia en cada localidad, y todas las entradas se cultivaron en un diseño de bloques completos aleatorizados con cuatro repeticiones por entrada. Se recogieron muestras de forraje y grano y se analizaron en busca de nutrientes y antinutrientes clave para la alimentación humana y animal.

Del forraje se analizaron los proximales, fibra y minerales; el grano se analizó en cuanto a proximales, fibra, almidón, minerales, vitaminas, aminoácidos, ácidos grasos, metabolitos secundarios y antinutrientes.

Se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) para comprobar los efectos de la entrada tanto entre localidades como dentro de cada localidad. Se realizaron comparaciones estadísticas entre la prueba y el control. Además, los niveles medios de los componentes se compararon con los rangos (mínimo a máximo) de los valores de los híbridos de referencia no transgénicos y con los rangos del maíz convencional publicados en la Base de Datos de AFSI.

Composición de proximales y fibra en forraje

No se detectaron diferencias entre la prueba y el control en los niveles de cenizas, fibra detergente ácida (ADF) o fibra detergente neutra (NDF). Se detectaron diferencias en los niveles de humedad, proteína, grasa y carbohidratos totales. Los niveles de humedad, proteína y grasa fueron inferiores en la prueba con respecto al control, mientras que el nivel de carbohidratos totales fue superior en la prueba con respecto al control. Los niveles medios de todos los proximales y fibra en el evento se encontraban dentro de los intervalos de los híbridos de referencia y dentro de los intervalos notificados en la base de datos AFSI.

Composición de proximales, fibra y almidón en grano

No se detectaron diferencias entre el evento objeto de evaluación y el control en los niveles de todos los proximales, tipos de fibra o almidón. Los niveles medios de todos los proximales, tipos de fibra y almidón en la prueba estaban dentro de los rangos de los híbridos de referencia y de los rangos de la base de datos AFSI. Los niveles de humedad de los granos se ajustaron mediante secado, ya fuera mecánico o en el campo, por lo que no se compararon estadísticamente.

En comparación con la muestra de forraje de control, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de ninguno de los componentes medidos en el maíz MZIR260.

La mayoría de los componentes evaluados del forraje y del grano no difirieron del testigo. En los casos en que se produjeron diferencias, los niveles medios de la prueba se situaron dentro de los intervalos considerados normales para el maíz convencional. Por lo tanto, la conclusión es que el forraje y el grano del maíz MZIR260 no difieren materialmente en composición de nutrientes (incluidos los proximales) de los del maíz convencional no transgénico.

3. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto:

Se realizó un análisis extensivo del inserto presente en el evento MZIR260 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.

El propósito de este estudio fue determinar la secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN) del inserto MZIR260 completo y al menos 1000 pares de bases (pb) de las regiones genómicas del maíz que flanquean el inserto, la integridad del inserto, la organización de los elementos

funcionales y la presencia de reordenamientos (por ejemplo, eliminaciones, inserciones, inversiones, duplicaciones y translocaciones) y/o cambios de pares de bases dentro del inserto MZIR260. la secuenciación. La metodología se realizó de acuerdo con la Nota Técnica de la EFSA sobre la calidad de Secuenciación de ADN para la caracterización molecular de plantas genéticamente modificadas (EFSAPanel de OGM 2018).

Se utilizó ADN genómico extraído del maíz MZIR260 para construir una biblioteca de fósmidos. Se seleccionaron dos clones de MZIR260 de fósmidos positivos y se usaron para secuenciar todo el inserto MZIR260 y al menos 1000 pb de la secuencia genómica del maíz que flanquea cada lado del inserto usando la secuenciación de Pacific Biosciences (PacBio®). Para verificar los resultados de la secuenciación PacBio® obtenidos para una región del homopolímero de 13-citosina que se encuentra en el promotor de ubiquitina derivado del maíz, también se realizó la secuenciación directa de Sanger de clones de fósmidos en esta región del homopolímero.

Los resultados de la secuenciación se utilizaron para generar una secuencia consenso final para el inserto MZIR260 y las secuencias flanqueantes genómicas del maíz, y esta secuencia se alineó con la secuencia de ADN de transferencia (TDNA) del plásmido pSYN24795 (Herrero 2023) para determinar si se había producido algún cambio durante el proceso de transformación.

La comparación del inserto MZIR260 y la secuencia flanqueante con el plásmido de transformación pSYN24795 mostró que el inserto MZIR260 está intacto sin reordenamientos y con un solo cambio de par de bases dentro del promotor de ubiquitina derivado de la caña de azúcar (de guanina a timina en la posición 1786 pb), en el inserto MZIR260 y las secuencias flanqueantes. Se observó truncamiento en las secuencias de los bordes derecho e izquierdo del ADN-T de pSYN24795 durante el proceso de transformación que dio como resultado el maíz MZIR260. Se truncó todo el borde derecho junto con 16 pb de la secuencia intermedia derivada de ADN-T y 8 pb del borde izquierdo. Dado que estas eliminaciones están ubicadas fuera de los casetes de expresión que se encuentran en el inserto MZIR260, no afectan la funcionalidad de los elementos contenidos en el mismo.

Los análisis de la secuencia de las tres generaciones indicaron que el inserto MZIR260 está presente como una sola copia y es estable a lo largo de cinco generaciones del maíz MZIR260.