EVALUACIÓN DE RIESGOS
CANOLA MS11 - CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Nombre del solicitante BASF QUÍMICA COLOMBIANA S.A.	**2. Nombre del contacto** Tiffany Grace Acuña Benavente
3. Dirección del solicitante Calle 99 No. 69C – 32 Bogotá D.C. Teléfono: (601) 3017858639 y (601) 6322260 ext. 1978	**4. Dirección del contacto** Calle 99 No. 69C – 32 Bogotá D.C. Teléfono: (601) 3017858639 y (601) 6322260 ext. 1978
5. Nombre del producto (Identificador Único y otros nombres) **Identificador OECD:** BCS-BNØ12-7 **Otros Nombres:** MS11	
6. Objetivo de la solicitud Autorización de uso de la Canola MS11 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
7. Aprobaciones y usos en otros países El evento MS11 se encuentra aprobado en Australia, Canadá, Nueva Zelanda, Filipinas, Corea del Sur, Taiwán y Estados Unidos para consumo humano y/o animal y/o siembra.	
8. Algún otro uso aprobado en Colombia: El evento MS11 aún no tiene aprobación de uso en el país.	

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL ORGANISMO VIVO MODIFICADO - OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores: Reino: Plantae Phylum: Tracheophyta Clase: Magnoliopsida Orden: Brassicales Familia: Brassicaceae Género: *Brassica* Especie: *Brassica napus* L. Nombre común: Canola o colza

2. Descripción de la modificación genética:

El evento MS11 en canola ha sido producido mediante modificación genética mediada por Agrobacterium tumefaciens con los siguientes casetes de genes:

• Gen bar: codifica la fosfinotricina acetil transferasa (PAT; phosphinothricin acetyl transferase, PAT/bar), que confiere tolerancia a herbicidas con ingrediente activo glufosinato. El gen bar está impulsado por el promotor PssuAt de la planta que está activo en todos los tejidos verdes de la planta.
• Gen barnasa: codifica para la ribonucleasa Barnasa. Este gen está impulsado por el promotor Pta29 que restringe la expresión del gen a las células de tapetum durante el desarrollo de las anteras. La expresión de Barnasa en las células de tapetum da como resultado la falta de polen viable y esterilidad masculina
• Gen barstar: codifica para la proteína Barstar, que es un inhibidor de la proteína barnasa, Este gen barstar profiláctico, impulsado por el promotor Pnos, se incluyó para mejorar la frecuencia de transformación.

MS11 es un componente de la tecnología híbrida SeedlinkTM. Esta tecnología híbrida comprende tres componentes: un gen dominante para la esterilidad masculina – el gen de la barnasa (evento MS11), un gen dominante para la restauración de la fertilidad – el gen barstar (evento RF3) y el gen bar (que se encuentra tanto en MS11 como en RF3) que confiere tolerancia al glufosinato-amonio. El evento de B. napus MS11 es una línea estéril masculina que segrega 1:1 para la esterilidad y la fertilidad y solo se utilizará para la producción de la semilla híbrida de B. napus MS11 x RF3. Nunca se comercializará como un producto independiente.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Tipo de modificación genética

Inserción	Deleción	Sustitución de bases	Fusión celular	Otro: bombardeo de micro-proyectiles

2. Método usado para transformar la planta:

La canola MS11 fue obtenida a partir de la trasformación genética de la línea de canola convencional N90-740 mediante el sistema Agrobacterium utilizando el vector pTCO113. Este vector contiene los casetes de expresión de los genes barnasa, barstar y bar. El gen barnasa derivado de la bacteria Bacillus amyloliquefaciens, codifica una ribonucleasa extracelular (RNasa) que se expresa únicamente en el tejido del tapetum de las anteras, donde es responsable de detener el desarrollo del polen. El gen barstar derivado de la bacteria Bacillus amyloliquefaciens, codifica la proteína Barstar que es un inhibidor de la proteína Barnasa y fue incluido para mejorar la frecuencia de transformación. El gen bar derivado de la bacteria Streptomyces hygroscopicus, codifica la enzima fosfinotricin acetil transferasa (PAT/bar) que confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio, esta característica fue utilizada como marcador para la selección de plantas transformadas durante el proceso de cultivo de tejidos y selección del evento MS11.

3. Fuente y función pretendida de cada constituyente del fragmento de ADN insertado

Descripción de los elementos genéticos en el vector pTCO113.

Posición	Orientación	Origen de la secuencia
1 - 25		**RB:** región fronteriza derecha del ADN-T de *Agrobacterium tumefaciens* (Zambryski, 1988)
26 - 97		Secuencias de poliligador: secuencia utilizada en la clonación
98 - 309	A la izquierda	**3'g7:** 3' región no trasladada del gen 7 de ADN-TL del plásmido Ti octopina de *Agrobacterium tumefaciens*. (Dhaese *et al.*, 1983)
310 - 331		Secuencias de poliligador: secuencia utilizada en la clonación
332 - 883	A la izquierda	***bar***: secuencia codificante del gen de la fosfinotricina acetiltransferasa de Streptomyces hygroscopicus (Thompson et al., 1987).
884 - 2613	A la izquierda	***PssuAt***: región promotora del gen de subunidad pequeña de la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa de Arabidopsis thaliana (Krebbers et al., 1988)
2614 - 2658		Secuencias de poliligador: secuencia utilizada en la clonación
2659 - 2919	A la izquierda	***3'nos:*** 3'' región no trasladada del gen de la nopalina sintasa proveniente del ADN-T de pTiT37 (Depicker et al., 1982)
2920 - 2935		Secuencias de poliligador: secuencia utilizada en la clonación
2936 - 3033	A la izquierda	***3'barnasa:*** 3' región no trasladada del gen de barnasa de Bacillus amyloliquefaciens (Hartley, 1988)
3034 - 3369	A la izquierda	***barnasa***: secuencia de codificación del gen de la barnasa de Bacillus amyloliquefaciens (Hartley, 1988)
3370 - 3371		Secuencias de poliligador: secuencia utilizada en la clonación
3372 - 4879	A la izquierda	***Pta29***: promotor del gen específico de antera TA29 de Nicotiana tabacum (tabaco). (Seurinck et al., 1990)
4880 - 4920		Secuencias de poliligador: secuencia utilizada en la clonación
4921 - 5214	A la derecha	***Pnos***: región promotora del gen de la nopalina sintasa de Agrobacterium tumefaciens (Depicker et al., 1982)
5215 - 5216		Secuencias de poliligador: secuencia utilizada en la clonación
5217 - 5489	A la derecha	***barstar***: secuencia de codificación del gen barstar de Bacillus amyloliquefaciens (Hartley, 1988)
5490 - 5554		Secuencias de poliligador: secuencia utilizada en la clonación
5555 - 5766	A la derecha	***3'g7***: 3' región no trasladada del gen 7 de ADN-TL del plásmido Ti octopina de Agrobacterium tumefaciens. (Dhaese et al., 1983)
5767 - 5840		Secuencias de poliligador: secuencia utilizada en la clonación
5841 - 5865		***LB***: región fronteriza izquierda del ADN-T de Agrobacterium tumefaciens (Zambryski, 1988)
5866 - 7745	A la izquierda	***aadA***: fragmento que incluye el gen aminoglicósido adeniltransferasa de Escherichia coli (Fling et al., 1985).
7746 - 8181	A la izquierda	***barstar***: fragmento que incluye el gen barstar de Bacillus amyloliquefaciens (Hartley, 1988)
8182 - 8405	A la izquierda	***aadA***: fragmento que incluye las secuencias ascendentes residuales del gen aminoglicósido adeniltransferasa de Escherichia coli según lo descrito por Fling et al., 1985

8406 - 12177		***ORI pVS1***: fragmento que incluye el origen de replicación del plásmido pVS1 de Pseudomonas aeruginosa (Heeb et al., 2000)
12178 - 13540		***ORI ColE1:*** fragmento que incluye el origen de replicación del plásmido pBR322 para replicación en Escherichia coli (Bolivar et al., 1977).

4. Diferencias del evento y Cultivar convencional:
Se realizaron análisis de composición para determinar los niveles de nutrientes clave y antinutrientes de MS11 y comparar esos resultados con las contrapartes convencionales no GM y seis variedades de referencia de B. napus no GM. Las muestras de granos de B. napus
recolectadas en la madurez de nueve ensayos de campo se analizaron para determinar proximales, fibra, aminoácidos, ácidos grasos, minerales, vitaminas y antinutrientes.

De los 57 analitos evaluados, se observaron diferencias estadísticamente significativas para solo dos analitos (gluconapina y taninos insolubles) entre la contraparte convencional no modificada genéticamente (GM) (Entrada A) y la línea no tratada de MS11 B. napus (Entrada B). Al comparar la contraparte convencional no GM y MS11 tratados con herbicida específico para la característica (Entrada C), 30 analitos fueron estadísticamente diferentes, lo que refleja la contribución del polen de otras parcelas dentro del campo a las flores estériles masculinas de MS11.

Sin embargo, en todos los casos, los promedios para todos los analitos estaban dentro del rango de las variedades de referencia y dentro de los intervalos de tolerancia para las variedades de referencia. Por tanto, las diferencias estadísticas significativas no se consideran biológicamente relevantes. Según el análisis de la composición, los niveles de nutrientes y antinutrientes en el grano de MS11 son equivalentes a los de las variedades de referencia de B. napus.

5. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto:
La estabilidad estructural del evento MS11 fue demostrada mediante análisis de transferencia Southern a través de cinco generaciones (T2, T3, F1, BC1 y BC2) y en diferentes cultivares. El DNA genómico (gDNA) aislado de tejido foliar de canola MS11 fue digerido con la enzima de restricción EcoRV, separado mediante electroforesis en gel de agarosa e hibridado con la sonda del T-DNA marcada con digoxigenina (DIG).

Cada membrana utilizada en el análisis contiene un control negativo de DNA genómico de la variedad convencional N90-740 digerido con EcoRV. Para todas las hibridaciones, este control negativo no mostró hibridación con la sonda del T-DNA, confirmando la ausencia de hibridación de fondo con las sondas utilizadas.

De manera similar, cada membrana contiene un control positivo. Para todas las hibridaciones se detectaron los fragmentos de tamaño esperado, lo que indica que las condiciones experimentales de la transferencia Southern permitieron la hibridación de la sonda T-DNA con las secuencias blanco. Se obtuvieron varios fragmentos adicionales pequeños y débiles para el control positivo sobre la membrana H1/LJS017/01-F3. Estos fragmentos adicionales son artefactos, que muy probablemente se deben a la actividad de inicio ya que estos fragmentos no se observaron después de la hibridación del plásmido de transformación pTCO113 digerido con la misma sonda de T-DNA.

El DNA genómico de la canola MS11 hibridado con la sonda T-DNA mostró los fragmentos de integración 5' y 3' esperados de 4900 pb y 4400 pb en todas las muestras analizadas de las generaciones T2, T3, F1, BC1 y BC2, lo cual demostró la **estabilidad** del evento MS11 a nivel genómico.

JUSTIFICACIÓN DE LA INTRODUCCIÓN DE LA CANOLA MS11 COMO ALIMENTO PARA CONSUMO ANIMAL

La canola, colza o mostaza, cuyo nombre taxonómico es *Brassica napus* L., es una especie de la familia de las crucíferas, Brassicaceae (OECD, 1997). Son plantas herbáceas, anuales o bianuales, con inflorescencia en racimos, sépalos erectos y hojas carnosas. Tallo de hasta 150cm. El Fruto es de tipo silícua que presentan numerosas semillas dispuestas en 1 o 2 filas.

La canola, aunque es una especie cosmopolita, se encuentra principalmente en el hemisferio norte, en zonas con clima templado, en el centro y sur de Europa y en el oeste de Asia (OECD, 1997). Es un cultivo que en etapa de crecimiento se adapta bien a climas templados y fríos, soporta temperaturas bajo cero grados. Necesita suelos profundos y bien drenados, es tolerante a sequías, pero no resiste el encharcamiento.

Aunque se usa ampliamente como aceite comestible en Asia, solo a través del mejoramiento de la calidad del aceite, y el desarrollo de técnicas de procesamiento mejoradas, el aceite de colza se ha vuelto importante en los países occidentales. Desde la Segunda Guerra Mundial, la producción de colza en Europa y Canadá ha aumentado dramáticamente como resultado de una mejor calidad del aceite y la harina. Técnicas modernas de transformación de plantas e identificación de genotipos utilizando isoenzimas, marcadores de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), o Los marcadores de ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD, por sus siglas en inglés) complementarán el mejoramiento clásico para la producción de otras líneas mejoradas (Buzza, 1995). China, India, Europa y Canadá son ahora los primeros productores, aunque este cultivo se puede cultivar con éxito en los Estados Unidos, América del Sur y Australia, donde la producción anual ha aumentado considerablemente en los últimos años.

La importancia de esta especie está en su aceite que es extraído de sus semillas o como forraje para la alimentación del ganado. A pesar que en la actualidad en el país su consumo no está muy extendido, por la importancia que ha tomado la producción en otros países, se convierte en una oportunidad para los productores nacionales.

II. EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS POTENCIALES

La evaluación de los riesgos potenciales se hará teniendo en cuenta la siguiente Matriz[1]:

		ESTIMACION DEL RIESGO[1]		
Probabilidad	Muy Probable	Moderado	Alto	Muy Alto
	Probable	Bajo	Moderado	Alto
	Poco Probable	Insignificante	Bajo	Moderado
		Menores	**Intermedias**	**Mayores**
		Consecuencias		

A. POTENCIAL DE QUE LA CANOLA MS11 SE CONVIERTA EN MALEZA O INVADA AMBIENTES NATURALES

Caracterización del riesgo

El uso de la Canola MS11 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, por lo tanto, no se prevé este riesgo.

Probabilidad de ocurrencia

Teniendo en cuenta que el uso de la Canola MS11 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, la ocurrencia de este riesgo es ***Poco Probable***.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia.

No se prevé consecuencias por cuanto el uso del Canola MS11 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal. De llegase a ocurrir un escape del grano para uso como semilla o liberación al ambiente, en general, se acepta que la mayoría de las plantas de cultivo, incluida la colza (*B. napus*), se han sometido a muchos años de mejoramiento selectivo y domesticación y, por lo tanto, funcionan de manera óptima solo en condiciones agrícolas controladas. Condiciones similares rara vez ocurren en hábitats naturales, lo que resulta en una mala aptitud de las plantas de canola fuera de un campo manejado (OGTR, 2002). Aunque la canola tiene varios rasgos de ciclo de vida en común con los que normalmente se asocian con las malezas, es un competidor pobre y no se considera una especie colonizadora (Salisbury, 2002). A menos que el hábitat se altere con regularidad o las semillas se repongan desde el exterior, la canola será desplazada por otras plantas (Salisbury, 2002). Las consecuencias para este riesgo se consideran ***Menores***.

Estimación del riesgo

Teniendo en cuenta la probabilidad de ocurrencia y las consecuencias, se puede concluir que el riesgo de que la Canola MS11 se convierta en maleza o invada ambientes naturales es ***Insignificante***.

---

[1] Un **riesgo insignificante** es considerado insustancial, cuando no hay necesidad de realizar acciones para su mitigación. Un **riesgo bajo** es considerado Mínimo, pero hay necesidad de tomar medidas de mitigación más allá de las prácticas normales. Un **riesgo moderado** se considera de notable preocupación y que se requieren medidas de mitigación que deben ser demostradas como eficaces. Un **riesgo alto** se considera inaceptable a menos que las medidas de mitigación son altamente viables y eficaces. Un **riesgo Muy alto** se considera inaceptable.

B. POTENCIAL DE LA CANOLA MS11 DE TRANSFERIR GENES A VARIEDADES CRIOLLAS O PLANTAS SEXUALMENTE COMPATIBLES

Caracterización del riesgo

El uso de la Canola MS11 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, por lo tanto, no se prevé este riesgo.

Probabilidad de ocurrencia

Teniendo en cuenta que el uso de la Canola MS11 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, la ocurrencia de este riesgo es ***Poco Probable***.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia.

De llegase a ocurrir un escape del grano para uso como semilla o liberación al ambiente, B. napus tiene la capacidad de hibridar con especies relacionadas. Sin embargo, el flujo de genes en el medio ambiente está limitado por barreras ambientales (viabilidad del polen, dispersión del polen, proximidad y sincronía de la floración) y barreras genéticas (capacidad de cruzarse y producir progenie fértil). Adicionalmente, la especie *B*. *napus* genéticamente modificada no cuenta con autorizaciones para siembra comercial en Colombia por lo que la proximidad de parientes silvestres sexualmente compatibles y canola cultivada no representa un riesgo de cruzamiento alto.

Otro aspecto que hay que tener en cuenta es que el cruce entre diferentes materiales, no implica una fijación de una característica dentro de una población. Para ello debe darse el fenómeno de introgresión.

La introgresión de una característica, sea dada por ingeniería genética o por cruce convencional, es un proceso dinámico que toma muchos años y muchas generaciones antes de que la característica se fije en el contenido genético de una raza, una variedad, una línea o un pariente silvestre. En este caso debe haber una selección prolongada de las plantas que presentan el carácter de interés y someterla a muchos ciclos.

Teniendo en cuenta lo anterior sumado a que el uso de la Canola MS11 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, las consecuencias para este riesgo se consideran ***Menores***.

Estimación del riesgo

Teniendo en cuenta la probabilidad de ocurrencia y las consecuencias, se puede concluir que el riesgo de que la Canola MS11 transfiera genes a variedades criollas o plantas sexualmente compatibles es ***Insignificante***.

C. POTENCIAL DE LA CANOLA MS11 DE AFECTAR A ORGANISMOS NO BLANCO.
Caracterización del riesgo
Caracterización del riesgo
El uso de la Canola MS11 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal. Sumado a esto, La canola DP73496 contiene los genes *bar*, *barnasa* y *barstar* que confieren tolerancia a herbicidas con ingrediente activo glufosinato de amonio y sistema de control de polinización, y no tiene características de resistencia a insectos, por lo tanto, no se prevé este riesgo.

Probabilidad de ocurrencia
Teniendo en cuenta que el uso de las Canola MS11 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, la ocurrencia de este riesgo es ***Poco Probable***.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia
Un efecto adverso en poblaciones de organismos no blanco en el ambiente receptor podría causar un desequilibrio ecológico, así como una toxicidad en estos como consecuencia de la expresión de las proteínas presentes en la Canola evento MS11. Sin embargo, de acuerdo a la información entregada por el solicitante, la descripción genética del evento (tolerante a herbicida) y la historia de uso seguro, se puede deducir que la proteína expresada en la Canola evento MS11, no es tóxica para organismos no blanco. En este orden de idea, se considera que las consecuencias en caso de ocurrencia de que la Canola MS11 afecte poblaciones de organismos no blanco se consideran ***Menores***.

Estimación del riesgo
Se considera que la estimación del riesgo que la Canola evento MS11 afecte poblaciones de organismos no blanco es ***Insignificante***.

D. POTENCIAL QUE LAS PROTEÍNAS INTRODUCIDAS EN EL EVENTO CANOLA MS11 PUEDAN SER ALERGÉNICAS Y/O TÓXICAS.

Caracterización del riesgo
Se realizó una evaluación de la posible homología de secuencia de aminoácidos de las proteínas del evento MS11 con alérgenos y toxinas conocidos mediante el uso de varios enfoques *in silico*. Para evaluar la identidad potencial de la secuencia de aminoácidos con alérgenos conocidos en la base de datos pública COMPARE (www.comparedatabase.org), se llevaron a cabo los siguientes acercamientos in silico:

- Búsqueda de identidad general para comparar la secuencia de consulta completa con cada una de las secuencias de proteínas presentes en la base de datos COMPARE (www.comparedatabase.org). Se utilizó el algoritmo FASTA, con la matriz de puntuación BLOSUM50 y un umbral de valor E de 10. El criterio que indica alergenicidad potencial fue una identidad ≥35% sobre al menos 80 aminoácidos consecutivos con una proteína alergénica.
- Búsqueda de 8 meros para identificar cualquier secuencia corta de 8 aminoácidos o más que comparte el 100% de identidad con una proteína alergénica. Esta búsqueda se realizó utilizando SeqMatchAll del paquete EMBOSS, que comparó la secuencia de consulta con todos los alérgenos conocidos presentes en la base de datos de alérgenos.

Además, este estudio consideró los sitios potenciales de N-glicosilación de las proteínas mediante

la búsqueda de sus motivos de secuencia conocidos. Adicionalmente, se utilizaron dos enfoques in silico basados en el algoritmo FASTA asociado con la matriz de puntuación BLOSUM50 para evaluar la identidad potencial de la secuencia de aminoácidos de la proteína de consulta con toxinas conocidas:

- Una búsqueda de identidad general con todas las secuencias de proteínas presentes en la base de datos no redundante de NCBI (NCBI_NR). Se usó un umbral de valor E de 0.1 para preseleccionar las proteínas más similares. La relevancia biológica de los partidos se evaluó más a fondo.
- Una búsqueda de identidad general con todas las secuencias de proteínas presentes en la base de datos interna de toxinas. Se usó un umbral de valor E de 10 para preseleccionar las toxinas más idénticas. La relevancia biológica de los partidos se evaluó más a fondo.

Proteína Barnasa

La búsqueda FASTA con la secuencia completa contra la base de datos de alérgenos COMPARE no mostró una identidad significativa entre la proteína de consulta y cualquier proteína alergénica conocida. Además, la búsqueda de identidad de 8 meros no mostró segmentos que compartieron el 100% de identidad con ninguna secuencia de esta base de datos de alérgenos.

Se identificó un sitio potencial de N-glicosilación en la secuencia de aminoácidos de la proteína Barnasa. Sin embargo, la presencia de este sitio no es necesariamente predictiva de una posible glicosilación de la proteína en planta ni de potencial alergenicidad.

La búsqueda completa de FASTA con el NCBI_NR, una base de datos general de proteínas mostró que la mayoría de las coincidencias correspondían a secuencias esperadas de Barnasa y proteínas portadoras del dominio RNAasa de varios orígenes, que tienen registros de seguridad favorables sin peligro potencial registrado. Además, no se encontraron indicios de toxicidad en la búsqueda con la base de datos interna de toxinas.

En conclusión, la evaluación de las búsquedas de identidad de secuencia de aminoácidos no reveló ningún hallazgo alergénico o toxicológico asociado con la proteína Barnasa.

Proteína Barstar

La búsqueda FASTA con la secuencia completa contra la base de datos de alérgenos COMPARE no mostró una identidad significativa entre la proteína de consulta y cualquier proteína alergénica conocida. Además, la búsqueda de identidad de 8 meros no mostró segmentos que compartieron el 100% de identidad con ninguna secuencia de esta base de datos de alérgenos.

No se identificaron sitios potenciales de N-glicosilación en la secuencia de aminoácidos de la proteína Barstar.

La búsqueda completa de FASTA con NCBI_NR, una base de datos general de proteínas mostró que la mayoría de las coincidencias correspondían a secuencias esperadas de Barstar (inhibidor de la barnasa) y proteínas portadoras de un dominio de secuencia de inhibidor de la ribonucleasa de varios orígenes, que tienen registros de seguridad favorables sin peligro potencial registrado. Además, no se encontraron identidades relevantes con ninguna proteína tóxica de la base de datos interna de toxinas.

En conclusión, la evaluación de las búsquedas de identidad de secuencias de aminoácidos no reveló ningún hallazgo alergénico o toxicológico asociado con la proteína Barstar.

Proteína PAT/bar

La búsqueda FASTA con la secuencia completa contra la base de datos de alérgenos COMPARE no mostró una identidad significativa entre la proteína de consulta y cualquier proteína alergénica conocida. Además, la búsqueda de identidad de 8 mer no mostró segmentos que compartieron el 100% de identidad con ninguna secuencia de esta base de datos de alérgenos.

No se identificaron posibles sitios de N-glicosilación en la secuencia de aminoácidos de la proteína PAT/bar.

La búsqueda completa de FASTA con NCBI_NR, una base de datos general de proteínas mostró que todas las coincidencias correspondían a secuencias esperadas de acetiltransferasa de varios orígenes, que tienen registros de seguridad favorables sin peligro potencial registrado. Además, no se encontraron identidades relevantes con ninguna proteína tóxica de la base de datos interna de toxinas.

En conclusión, la evaluación de las búsquedas de identidad de secuencias de aminoácidos no reveló ningún hallazgo alergénico o toxicológico asociado con la proteína PAT/bar

Digestibilidad in vitro de las proteínas en fluido gástrico simulado

Proteína Barnasa

La digestibilidad de la proteína Barnasa en fluido gástrico simulado (SGF, por sus siglas en inglés), se evaluó incubando la proteína Barnasa (producida en Escherichia coli al 97% de pureza) con pepsina a pH 1.2 y una temperatura de 37 ºC; se tomaron muestras para análisis en los tiempos de incubación de 0, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. Las muestras fueron analizadas para determinar la presencia de la proteína de prueba y posibles fragmentos de proteína potencialmente estables mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE, por sus siglas en inglés) teñido con azul de Coomassie, así como análisis de transferencia Western. La inmunodetección se realizó utilizando un anticuerpo policlonal dirigido a la proteína Barnasa. Los controles apropiados incluyeron la proteína Barnasa a pH 1.2 sin pepsina, SGF sin la proteína Barnasa y la proteína Barnasa diluida al 10% para verificar la sensibilidad de la prueba. Las proteínas de referencia, peroxidasa de rábano picante (HRP) conocida por su digestión rápida y ovoalbúmina (OVA) conocida por su digestión lenta, fueron probadas en paralelo.

El análisis de tinción con azul de Coomassie mostró que la proteína Barnasa se digirió muy rápidamente en pepsina a pH 1.2, dentro de los 30 segundos de incubación. No se encontraron bandas de fragmentos resultantes de la digestión de la proteína Barnasa.

El patrón de digestibilidad en el análisis de transferencia Western fue similar al patrón de digestibilidad SDS-PAGE teñido con azul de Coomassie, con una banda clara de Barnasa en el tiempo cero y una digestibilidad rápida después de 30 segundos de incubación en el SGF.

Las proteínas de referencia HRP y OVA fueron digeridas de manera rápida y lenta respectivamente, confirmando la validez de este estudio.

En conclusión, la proteína Barnasa se degrada rápidamente en fluido gástrico simulado (SGF, por sus siglas en inglés). Esto minimiza la probabilidad de que esta proteína sea absorbida a través del tracto digestivo humano conservando su estructura y/o actividad y causar una reacción alérgica, por lo que no se considera por estos factores un riesgo para la salud humana y animal.

Proteína Barstar

La digestibilidad de la proteína Barstar en fluido gástrico simulado (SGF, por sus siglas en inglés), se evaluó incubando la proteína Barstar (producida en Escherichia coli al 97% de pureza) con pepsina a pH 1.2 y una temperatura de 37 ºC; se tomaron muestras para análisis en los tiempos de incubación de 0, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. Las muestras fueron analizadas para determinar la presencia de la proteína de prueba y posibles fragmentos de proteína potencialmente estables mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE, por sus siglas en inglés) teñido con azul de Coomassie, así como análisis de transferencia Western. La inmunodetección se realizó utilizando un anticuerpo policlonal dirigido a la proteína Barstar. Los controles apropiados incluyeron la proteína Barstar a pH 1.2 sin pepsina, SGF sin la proteína Barstar y la proteína Barstar diluida al 10% para verificar la sensibilidad de la prueba. Las proteínas de referencia, peroxidasa de rábano picante (HRP) conocida por su digestión rápida y ovoalbúmina (OVA) conocida por su digestión lenta, fueron probadas en paralelo.

El análisis de tinción con azul de Coomassie mostró que la proteína Barstar se digirió muy rápidamente en pepsina a pH 1.2, dentro de los 30 segundos de incubación. No se encontraron bandas de fragmentos resultantes de la digestión de la proteína Barstar.

El patrón de digestibilidad en el análisis de transferencia Western fue similar al patrón de digestibilidad SDS-PAGE teñido con azul de Coomassie, con una banda clara de Barstar en el tiempo cero y una digestibilidad rápida después de 30 segundos de incubación en el SGF.

Las proteínas de referencia HRP y OVA fueron digeridas de manera rápida y lenta respectivamente, confirmando la validez de este estudio.

En conclusión, la proteína Barstar se degrada rápidamente en fluido gástrico simulado (SGF, por sus siglas en inglés). Esto minimiza la probabilidad de que esta proteína sea absorbida a través del tracto digestivo humano conservando su estructura y/o actividad y causar una reacción alérgica, por lo que no se considera por estos factores un riesgo para la salud humana y animal.

Proteína PAT/bar

La digestibilidad de la proteína PAT/bar en fluido gástrico simulado (SGF, por sus siglas en inglés), se evaluó incubando la proteína PAT/bar (producida en Escherichia coli al 65.82% de pureza) con pepsina a pH 1.2 y una temperatura de 37 ºC; se tomaron muestras para análisis en puntos temporales de 0, 0.5, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. Las muestras fueron analizadas para determinar la presencia de la proteína de prueba y posibles fragmentos de proteína potencialmente estables mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE, por sus siglas en inglés) teñido con azul de Coomassie, así como análisis de transferencia Western. La inmunodetección se realizó utilizando un anticuerpo policlonal dirigido a la proteína PAT/bar. Los controles apropiados incluyeron la proteína PAT/bar a pH 1.2 sin pepsina, SGF sin la proteína PAT/bar y la proteína PAT/bar diluida al 10% para verificar la sensibilidad de la prueba. Las proteínas de referencia, peroxidasa de rábano picante (HRP) conocida por su digestión rápida y, ovoalbúmina (OVA) conocida por su digestión lenta, fueron probadas en paralelo.

El análisis de tinción con azul de Coomassie mostró que la proteína PAT/bar se digirió muy rápidamente en pepsina a pH 1.2, dentro de los 30 segundos de incubación. No se encontraron bandas de fragmentos resultantes de la digestión de la proteína PAT/bar.

El patrón de digestibilidad en el análisis de transferencia Western fue similar al patrón de digestibilidad SDS-PAGE teñido con azul de Coomassie, con una banda clara de PAT/bar en el momento cero y una digestibilidad rápida (> 90%) después de 30 segundos de incubación en el SGF.

Las proteínas de referencia HRP y OVA fueron digeridas de manera rápida y lenta respectivamente, confirmando la validez de este estudio.

En conclusión, la proteína PAT/bar se degrada rápidamente en fluido gástrico simulado (SGF, por sus siglas en inglés). Esto minimiza la probabilidad de que esta proteína sea absorbida a través del tracto digestivo humano conservando su estructura y/o actividad y causar una reacción alérgica, por lo que no se considera por estos factores un riesgo para la salud humana y animal.

Digestibilidad in vitro de las proteínas en fluido intestinal simulado

Proteína Barnasa

La digestibilidad de la proteína Barnasa en fluido intestinal simulado (SIF, por sus siglas en inglés), se evaluó incubando la proteína Barnasa (producida en Escherichia coli al 97% de pureza) con pancreatina a pH 7.5 y una temperatura de 37 ºC; se tomaron muestras para análisis en los tiempos de incubación de 0, 0.5, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. Las muestras fueron analizadas para determinar la presencia de la proteína de prueba y posibles fragmentos de proteína potencialmente estables mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE, por sus siglas en inglés) teñido con azul de Coomassie, así como análisis de transferencia Western. La inmunodetección se realizó utilizando un anticuerpo policlonal dirigido a la proteína Barnasa. Los controles apropiados incluyeron la proteína Barnasa a pH 1.2 sin pancreatina, SGF sin la proteína Barnasa y la proteína Barnasa diluida al 10% para verificar la sensibilidad de la prueba.

Tanto el análisis SDS-PAGE como el análisis de transferencia Western, mostraron que la proteína Barnasa se degrada en un periodo de 60 min de incubación con SIF a pH 7.5.

En conclusión, la proteína Barnasa se degrada en pancreatina a pH 7.5 en un periodo de 60 min.

Proteína Barstar

La digestibilidad de la proteína Barstar en fluido intestinal simulado (SIF, por sus siglas en inglés), se evaluó incubando la proteína Barstar (producida en Escherichia coli al 97% de pureza) con pancreatina a pH 7.5 y una temperatura de 37 ºC; se tomaron muestras para análisis en los tiempos de incubación de 0, 0.5, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. Las muestras fueron analizadas para determinar la presencia de la proteína de prueba y posibles fragmentos de proteína potencialmente estables mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE, por sus siglas en inglés) teñido con azul de Coomassie, así como análisis de transferencia Western. La inmunodetección se realizó utilizando un anticuerpo policlonal dirigido a la proteína Barstar. Los controles apropiados incluyeron la proteína Barstar a pH 1.2 sin pancreatina, SGF sin la proteína Barstar y la proteína Barstar diluida al 10% para verificar la sensibilidad de la prueba.

Tanto el análisis SDS-PAGE como el análisis de transferencia Western, mostraron que >90% de la proteína Barstar se degrada en un periodo de 10 min de incubación con SIF a pH 7.5.

En conclusión, la proteína Barstar se degrada en pancreatina a pH 7.5 en un periodo de 10 min.

Proteína PAT/bar

La estabilidad de la proteína PAT/bar en fluido intestinal simulado (SIF, por sus siglas en inglés), se evaluó incubando la proteína PAT/bar (producida en Escherichia coli con una pureza de 65.82%) con pancreatina a pH 7.5 y una temperatura de 37 ºC; se tomaron muestras para análisis en puntos temporales de 0, 0.5, 2, 5, 10, 20, 30 y 60 minutos. Las muestras fueron analizadas para determinar la presencia de la proteína PAT/bar y posibles fragmentos de proteína potencialmente estables mediante electroforesis SDS-PAGE67 y análisis de transferencia Western. La inmunodetección se realizó utilizando un anticuerpo policlonal dirigido a la proteína PAT/bar. Los controles apropiados incluyeron la proteína PAT/bar en solución buffer sin pancreatina, la proteína PAT/bar diluida al 10% y SIF sin la proteína PAT/bar.

Tanto el análisis SDS-PAGE como el análisis de transferencia Western demostraron que la proteína PAT/bar se degrada rápidamente, sin fragmentos de proteína visibles, en menos de 30 segundos de incubación con SIF a pH 7.5.

Estos datos indican que la proteína PAT/bar es digerida en más de 90% en fluido intestinal simulado (SIF) en menos de 30 segundos.

Estabilidad Térmica

Proteína Barnasa

La estabilidad térmica de la proteína Barnasa (producida en Escherichia coli con una pureza de 97%) fue evaluada mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDSPAGE, por sus siglas en inglés) y análisis de transferencia Western, usando un anticuerpo policlonal específico antiBarnasa de conejo.

Las muestras de proteína Barnasa fueron incubadas a temperaturas de 4 °C, 25 °C, 37 °C, 55 °C, 75 °C y 95 °C durante 30 minutos. La proteína Barnasa tratada con una temperatura de 4 ºC se usó como referencia (línea base) para las muestras tratadas con otras temperaturas.

Los análisis SDS-PAGE y de transferencia Western produjeron resultados similares. Después del tratamiento térmico a 25 °C, 37 °C y 55 °C, la mayor parte de la proteína Barnasa permaneció en el sobrenadante. Después del tratamiento a 55 °C, hay bandas más pequeñas debajo de la banda de Barnasa, lo que sugiere que la proteína se está degradando. Las bandas más pequeñas son más pronunciadas en las muestras tratadas a 75 °C y 95 °C. La intensidad de la banda de Barnasa a 95 °C disminuyó tanto en el SDS-PAGE como en el análisis de transferencia Western. Los resultados sugieren que la proteína Barnasa se degrada después del tratamiento térmico a 55 °C y, por lo tanto, no es estable al calentar a 55 °C.

Proteína Barstar

La estabilidad térmica de la proteína Barstar (producida en Escherichia coli con una pureza de 97%) fue evaluada mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio

(SDSPAGE, por sus siglas en inglés) y análisis de transferencia Western, usando un anticuerpo policlonal específico antiBarstar de conejo.

Las muestras de proteína Barstar fueron incubadas a temperaturas de 4 °C, 25 °C, 37 °C, 55 °C, 75 °C y 95 °C durante 30 minutos. La proteína Barstar tratada con una temperatura de 4 ºC se usó como referencia (línea base) para las muestras tratadas con otras temperaturas.

Los análisis SDS-PAGE y de transferencia Western produjeron resultados similares. Después del tratamiento térmico a 25 °C, 37 °C y 55 °C, la mayor parte de la proteína Barstar permaneció en el sobrenadante. Después del tratamiento térmico a 75 °C y 95 °C, había una pequeña cantidad de Barstar en el sedimento, pero la mayoría aún permanecía en el sobrenadante. Después del tratamiento térmico a 95 °C, Barstar produce multímeros que están principalmente en el sobrenadante. Esto sugiere que Barstar forma oligómeros solubles al calentar a 95 °C y que la proteína Barstar no es estable al calentar a 95 °C.

Proteína PAT/bar

La estabilidad térmica de la proteína PAT/bar (producida en Escherichia coli con una pureza de 65.82%) fue evaluada mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDSPAGE, por sus siglas en inglés) y análisis de transferencia Western, usando un anticuerpo policlonal específico anti-PAT/bar de conejo.

Las muestras de proteína PAT/bar fueron incubadas a temperaturas de 60 ºC, 75 ºC y 90 ºC durante 10, 30 y 60 minutos. La proteína PAT/bar tratada con una temperatura de 4 ºC se usó como referencia (línea base) para las muestras tratadas con otras temperaturas.

Los análisis SDS-PAGE y transferencia Western produjeron resultados similares. Después de los tratamientos térmicos, no hubo cambios visibles en la banda de la proteína PAT/bar a 60 ºC, 75 ºC o 90 ºC en los tiempos de 10 a 60 minutos, con intensidades similares a las de la muestra sin calentar.

Conclusión

La termolabilidad de una proteína proporciona una indicación de la estabilidad de la proteína en condiciones de cocción/procesamiento.

El uso principal de alimentos para canola es el aceite. Las temperaturas requeridas para inactivar completamente las tres proteínas están dentro de las normalmente aplicadas durante la cocción/acondicionamiento de la semilla de canola antes de la extracción del aceite. Cocinar sirve para romper térmicamente las células de aceite que han sobrevivido al descascarillado, reducir la viscosidad del aceite, promoviendo así la coalescencia de las gotas de aceite, aumentar la velocidad de difusión de la pasta de aceite preparada y desnaturalizar las enzimas hidrolíticas. El ciclo de cocción generalmente dura de 15 a 20 minutos y las temperaturas generalmente oscilan entre 80 y 105 °C, con un óptimo de aproximadamente 88 °C.

Toxicidad Aguda

Proteína Barnasa

La toxicidad oral aguda para la proteína Barnasa fue evaluada en machos y hembras de ratón cepa

C57BL/6J. En este estudio se utilizó la proteína producida en Escherichia coli Lote 1205_Barnasa con una pureza de 100%. La proteína fue administrada mediante sonda a un grupo de 6 machos y 6 hembras de ratón cepa C57BL/6J a una dosis máxima de 2000 mg/kg de peso. Una vez realizada la administración de la proteína, se observaron los signos clínicos de todos los animales diariamente durante 15 días, mientras que el peso corporal y el consumo de alimento fueron evaluados semanalmente. Al final del estudio, los animales fueron pesados y examinados en una necropsia incluyendo examen macroscópico.

Durante el estudio no se observó mortalidad, ni signos clínicos relacionados con el tratamiento, ni efectos en los parámetros de peso corporal y consumo de alimento, asimismo, no se observaron cambios macroscópicos en la necropsia de los ratones C57BL/6J, después de la administración oral aguda de la proteína Barnasa a una dosis de 2000 mg/kg de peso.

Con base en los resultados del estudio, se concluye que la proteína Barnasa administrada por vía oral no produjo ningún signo de toxicidad sistémica en los ratones C57BL/6J, aún bajo condiciones de alta exposición a una dosis elevada de 2000 mg/kg peso.

Proteína Barstar

La toxicidad oral aguda para la proteína Barstar fue evaluada en machos y hembras de ratón cepa C57BL/6J. En este estudio se utilizó la proteína producida en Escherichia coli Lote 1340_Barstar con una pureza de 93%. La proteína fue administrada mediante sonda a un grupo de 6 machos y 6 hembras de ratón cepa C57BL/6J a una dosis máxima de 2000 mg/kg de peso. Una vez realizada la administración de la proteína, se observaron los signos clínicos de todos los animales diariamente durante 15 días, mientras que el peso corporal y el consumo de alimento fueron evaluados semanalmente. Al final del estudio, los animales fueron pesados y examinados en una necropsia incluyendo examen macroscópico.

Durante el estudio no se observó mortalidad, ni signos clínicos relacionados con el tratamiento, ni efectos en los parámetros de peso corporal y consumo de alimento, asimismo, no se observaron cambios macroscópicos en la necropsia de los ratones C57BL/6J, después de la administración oral aguda de la proteína Barstar a una dosis de 2000 mg/kg de peso.

Con base en los resultados del estudio, se concluye que la proteína Barstar administrada por vía oral no produjo ningún signo de toxicidad sistémica en los ratones C57BL/6J, aún bajo condiciones de alta exposición a una dosis elevada de 2000 mg/kg peso.

Proteína PAT/bar

La toxicidad oral aguda para la proteína PAT/bar fue evaluada en hembras de ratón cepa C57BL/6J. En este estudio se utilizó la proteína producida en Escherichia coli lote 1215 con una pureza de 91%. La proteína fue administrada mediante sonda a un grupo de 5 hembras de ratón cepa C57BL/6J a una dosis máxima de 2000 mg/kg de peso. Como control experimental se utilizó únicamente el vehículo de la proteína administrado de la misma manera, a un grupo 5 hembras de ratón. Una vez realizada la administración de la proteína, se observaron los signos clínicos de todos los animales diariamente durante 15 días, mientras que el peso corporal y el consumo de alimento fueron evaluados semanalmente. Al final del estudio, los animales fueron pesados y examinados en una necropsia incluyendo examen macroscópico.

Durante el estudio no se observó mortalidad, ni signos clínicos relacionados con el tratamiento, ni

efectos en los parámetros de peso corporal y consumo de alimento, asimismo, no se observaron cambios macroscópicos en la necropsia de los ratones C57BL/6J, después de la administración oral aguda de la proteína PAT/bar a una dosis de 2000 mg/kg de peso.

Con base en los resultados del estudio, se concluye que la proteína PAT/bar administrada por vía oral no produjo ningún signo de toxicidad sistémica en los ratones C57BL/6J, aún bajo condiciones de alta exposición a una dosis elevada de 2000 mg/kg peso.

CONCLUSIÓN GENERAL

Con los anteriores puntos se ha demostrado la inexistencia de homología con tóxicos o alérgenos conocidos, la poca y/o nula actividad de las proteínas en sistemas gastrointestinales simulados, así como exposición a diversas temperaturas y la ausencia de efectos tóxicos en ensayos de toxicidad aguda. A esto se suma que la canola MS11 es equivalente desde el punto de vista sustancial a sus contrapartes isogénicas no genéticamente modificadas, siendo equivalentes desde el punto de vista nutricional.

Todo lo anterior para concluir que no se requieren análisis o estudios adicionales para demostrar la inocuidad de las nuevas proteínas presentes en el evento de canola MS11.

Probabilidad de Ocurrencia
De acuerdo a los estudios realizados referentes a que los genes barnasa, barstar y bar expresados en MS11, pueda generar algún efecto tóxico o alergénico, la ocurrencia de este riesgo es ***Poco Probable*****.**

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia
En caso de que la proteína presente en la Canola evento MS11 tenga alguna actividad toxica y/o alergénica podría causar trastornos en la salud humana y/o de los animales que podrían afectar su desarrollo normal. En este sentido las consecuencias se califican como ***Menores.***

Estimación del riesgo
Se puede concluir que la Canola MS11 posee un riesgo ***Insignificante*** en cuanto a toxicidad y alergenicidad con respecto a su contraparte convencional.

E. IMPACTO EN LA NUTRICIÓN ANIMAL DE LA CANOLA MS11

Caracterización del riesgo
La Canola con el evento MS11, junto con las contrapartes convencionales no modificadas genéticamente (no GM) (N90-740) y seis variedades de referencia comerciales no GM, se cultivaron en 2014 en 10 ensayos de campo en las regiones productoras de B. napus de Canadá y Estados Unidos. El diseño del ensayo de campo para la evaluación de MS11 consistió en seis entradas replicadas cuatro veces (24 parcelas en total) en un diseño de bloques completos al azar en cada planta. Las siguientes son las descripciones de las entradas:

- Contraparte convencional no GM (Entrada A)
- MS11 no tratado con herbicida específico para la característica (Entrada B)
- MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C)
- Tres de las seis líneas/variedades comerciales de referencia no GM de B. Napus (Entradas F- K)

Las parcelas de B. napus con el evento MS11 tratados con herbicida específico para la característica (Entrada C) recibieron una aplicación de glufosinato de amonio (Liberty 280 SL; 2.34 lb ai/US gal (aprox. 280 g ai/L)) a una tasa objetivo de 500 g ai/ha en la etapa de crecimiento de BBCH 12 a 14. El tratamiento con herbicida específico para la característica eliminó los segregantes fértiles de las parcelas tratadas, por lo tanto, las plantas restantes en estas parcelas dependían del polen de parcelas vecinas para la fertilización.

Se realizaron análisis de composición para determinar los niveles de nutrientes clave y antinutrientes de MS11 y comparar esos resultados con las contrapartes convencionales no GM y seis variedades de referencia de B. napus no GM. Las muestras de granos de B. napus recolectadas en la madurez de nueve ensayos de campo se analizaron para determinar proximales, fibra, aminoácidos, ácidos grasos, minerales, vitaminas y antinutrientes.

De los 57 analitos evaluados, se observaron diferencias estadísticamente significativas para solo dos analitos (gluconapina y taninos insolubles) entre la contraparte convencional no modificada genéticamente (GM) (Entrada A) y la línea no tratada de MS11 B. napus (Entrada B). Al comparar la contraparte convencional no GM y MS11 tratados con herbicida específico para la característica (Entrada C), 30 analitos fueron estadísticamente diferentes, lo que refleja la contribución del polen de otras parcelas dentro del campo a las flores estériles masculinas de MS11.

Sin embargo, en todos los casos, los promedios para todos los analitos estaban dentro del rango de las variedades de referencia y dentro de los intervalos de tolerancia para las variedades de referencia. Por tanto, las diferencias estadísticas significativas no se consideran biológicamente relevantes. Según el análisis de la composición, los niveles de nutrientes y antinutrientes en el grano de MS11 son equivalentes a los de las variedades de referencia de B. napus.

Proximales y fibra en grano.

No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 no tratado con herbicida específico para rasgo (Entrada B) para ninguno de los proximales o fibras. No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y la MS11 tratado con herbicida específico para rasgo (Entrada C) para los carbohidratos totales.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las contrapartes convencionales no GM (Entrada A) y MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) para la humedad, ceniza, grasa, proteína, fibra detergente ácida y fibra detergente neutra. Sin embargo, los promedios para todas las entradas, para todos los proximales y la fibra, estaban dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Ver en la tabla 1 los resultados.

Tabla 1. Comparación de proximales y fibra en el grano de MS11 con su contraparte convencional no GM [a]

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	MS11 No tratado (Entrada B)	MS11 Tratado (Entrada C)	Rango de Variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [b]	Intervalo de Tolerancia en variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [c]	Prueba T de comparación A frente B [d]	Prueba T de comparación A frente C [d]
	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	p-valor	p-valor
Humedad (% FW)	9.73 ± 2.78	9.49 ± 2.28	11.54 ± 4.20	4.16 - 14.50	1.32 - 17.25	0,922	0,010
Cenizas (% DW)	4.87 ± 0.86	5.00 ± 0.84	5.47 ± 0.91	0.77 - 10.60	1.36 - 7.99	0,316	0,001
Carbohidratos totales (% DW)	29.7 ± 2.3	29.4 ± 1.8	31.2 ± 3.3	22.7 - 43.2	20.7 - 37.3	0,994	0,078
Graso (% DW)	37.1 ± 4.6	36.5 ± 4.3	33.8 ± 4.7	26.3 - 46.7	26.4 - 49.7	0,261	<.001
Proteina (% DW)	28.4 ± 2.3	29.1 ± 2.5	29.6 ± 1.3	23.2 - 33.4	21.0 - 35.6	0,213	0,006
Fibra detergente acida (% DW)	21.3 ± 1.9	21.5 ± 1.7	20.1 ± 2.7	15.2 - 24.6	14.0 - 25.4	0,979	0,023
Fibra detergente neutra (% DW)	25.0 ± 1.9	24.6 ± 1.9	23.4 ± 2.5	18.9 - 29.1	17.1 - 29.4	0,413	0,011

a Las muestras de Composición se derivaron de nueve ensayos de campo realizadas en Canadá y EUA en 2014.
b Rango de resultados de seis líneas de referencia (Entradas F-K).
c Intervalo de tolerancia del 99%: Rango de líneas de referencia según los intervalos de tolerancia especificados para contener 99% de la población con un 95% de confianza.
d Valor de p en la prueba T: Comparación pareada con la contraparte convencional no GM (Entrada A).

Aminoácidos en grano.

No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 no tratado con herbicida específico para la característica (Entrada B) para ninguno de los aminoácidos.

No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y la MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) para arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, treonina, triptófano, tirosina y valina.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las contrapartes convencionales no GM (Entrada A) y MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) para alanina, cistina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina y serina. Sin embargo, los promedios para todas las entradas, para todos los aminoácidos, estaban dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Ver en la tabla 2 los resultados.

Tabla 2. Comparación de aminoácidos MS11 con su contraparte convencional no GM[a] (% DW).

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	MS11 No tratado (Entrada B	MS11 Tratado (Entrada C)	Rango de Variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [b]	Intervalo de Tolerancia en variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [c]	Prueba T de comparación A frente B [d]	Prueba T de comparación A frente C [d]
	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	p-valor	p-valor
Alanina	1.27 ± 0.10	1.28 ± 0.09	1.32 ± 0.06	0.98 - 1.44	0.96 - 1.53	0,984	0,005
Arginina	1.96 ± 0.17	1.98 ± 0.17	2.01 ± 0.11	1.51 - 2.34	1.38 - 2.43	0,745	0,064
Ácido Aspártico	2.25 ± 0.23	2.25 ± 0.22	2.29 ± 0.15	1.63 - 2.49	1.46 - 2.67	0,822	0,227
Cistina	0.627 ± 0.064	0.639 ± 0.059	0.644 ± 0.056	0.539 - 0.849	0.474 - 0.910	0,428	0,039
Ácido Glutámico	4.91 ± 0.46	4.99 ± 0.41	5.03 ± 0.30	4.09 - 5.94	3.57 - 6.28	0,567	0,057
Glicina	1.43 ± 0.12	1.44 ± 0.10	1.45 ± 0.08	1.16 - 1.68	1.06 - 1.75	0,774	0,115
Histidina	0.697 ± 0.058	0.721 ± 0.064	0.720 ± 0.048	0.585 - 0.880	0.522 - 0.910	0,237	0,061
Isoleucina	1.19 ± 0.10	1.20 ± 0.09	1.21 ± 0.06	0.914 - 1.39	0.84 - 1.46	0,729	0,239
Leucina	2.06 ± 0.17	2.08 ± 0.16	2.10 ± 0.10	1.64 - 2.36	1.51 - 2.49	0,770	0,107
Lisina	1.52 ± 0.11	1.57 ± 0.11	1.59 ± 0.09	1.38 - 1.90	1.20 - 1.98	0,120	0,002
Metionina	0.505 ± 0.037	0.511 ± 0.040	0.522 ± 0.035	0.399 - 0.644	0.379 - 0.657	0,757	0,021
Fenilalanina	1.19 ± 0.10	1.20 ± 0.10	1.22 ± 0.06	0.931 - 1.37	0.87 - 1.44	0,704	0,044
Prolina	1.73 ± 0.21	1.77 ± 0.21	1.83 ± 0.26	1.46 - 2.28	1.22 - 2.32	0,362	<.001
Serina	1.22 ± 0.10	1.23 ± 0.09	1.25 ± 0.06	0.99 - 1.42	0.92 - 1.47	0,685	0,043
Treonina	1.22 ± 0.09	1.23 ± 0.08	1.24 ± 0.06	0.99 - 1.39	0.93 - 1.47	0,946	0,205
Triptófano	0.416 ± 0.033	0.420 ± 0.036	0.428 ± 0.028	0.320 - 0.499	0.283 - 0.534	0,718	0,050
Tirosina	0.899 ± 0.067	0.901 ± 0.064	0.911 ± 0.040	0.715 - 1.020	0.669 - 1.072	0,933	0,187
Valina	1.45 ± 0.12	1.46 ± 0.11	1.47 ± 0.07	1.15 - 1.67	1.06 - 1.77	0,996	0,126

a Las muestras de Composición se derivaron de nueve ensayos de campo realizadas en Canadá y EUA en 2014..
b Rango de resultados de seis líneas de referencia (Entradas F-K).
c Intervalo de tolerancia del 99%: Rango de líneas de referencia según los intervalos de tolerancia especificados para contener 99% de la población con un 95% de confianza.
d Valor de p en la prueba T: Comparación pareada con la contraparte convencional no GM (Entrada A).

Ácidos grasos en grano.

No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 no tratado con herbicida específico para la característica (Entrada B) para ninguno de los ácidos grasos. No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y la MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) para el ácido palmitoleico 16:1, el ácido linoleico 18:2, el ácido linolénico 18:3 y ácido eicosenoico 20:1. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las contrapartes convencionales no GM (Entrada A) y MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) para ácido palmítico 16:0, ácido esteárico 18:0, ácido oleico18:1, ácido araquídico 20:0, ácido behénico 22:0, ácido lignocérico 24:0 y ácido nervónico 24:1. Sin embargo, los promedios para todas las entradas, para todos los ácidos grasos, estaban dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Ver en la tabla 3 los resultados.

Tabla 3. Comparación de Ácidos grasos del grano de MS11 con su contraparte convencional no GM[a] (% de Ácidos grasos totales).

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	MS11 No tratado (Entrada B)	MS11 Tratado (Entrada C)	Rango de Variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [b]	Intervalo de Tolerancia en variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [c]	Prueba T de comparación A frente B [d]	Prueba T de comparación A frente C [d]
	Medi a ± DE	Media ± DE	Media ± DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	p-valor	p-valor
16:0 Palmitico	4.17 ± 0.18	4.21 ± 0.20	4.34 ± 0.20	3.53 - 5.03	3.34 - 5.22	0,357	0,013
16:1 Palmitoleico	0.226 ± 0.018	0.215 ± 0.018	0.235 ± 0.021	0.194 - 0.295	0.179 - 0.302	0,067	0,175
18:0 Esteárico	2.16 ± 0.25	2.22 ± 0.28	2.27 ± 0.34	1.62 - 2.66	1.40 - 2.72	0,263	0,009
18:1 Oleico	63.1 ± 2.0	63.5 ± 2.0	61.6 ± 2.5	54.3 - 66.2	52.2 - 69.3	0,433	<.001
18:2 Linoleico	18.4 ± 1.0	18.2 ± 1.0	18.8 ± 1.3	16.0 - 25.2	13.9 - 26.6	0,543	0,207
18:3 Linolenico	9.05 ± 1.40	8.70 ± 1.41	9.55 ± 1.49	6.82 - 13.10	4.06 - 14.37	0,085	0,053
20:0 Araquidico	0.731 ± 0.068	0.757 ± 0.080	0.782 ± 0.103	0.530 - 0.909	0.436 - 0.936	0,097	<.001
20:1 Eicosenoico	1.34 ± 0.10	1.38 ± 0.11	1.42 ± 0.12	0.933 - 3.33	0.11 - 2.95	0,486	0,071
20:2 Eicosadienoico	<LOQ - 0.0861	<LOQ	<LOQ - 0.0897	<LOQ - 0.124	NA	NA	NA
22:0 Behénico	0.408 ± 0.042	0.425 ± 0.049	0.452 ± 0.060	0.215 - 0.487	0.183 - 0.547	0,076	<.001
22:1 Erúcico	<LOQ	<LOQ	<LOQ - 0.166	<LOQ - 1.96	NA	NA	NA
24:0 Lignocérico	0.198 ± 0.039	0.209 ± 0.043	0.234 ± 0.055	0.114 - 0.319	0.075 - 0.314	0,132	<.001
24:1 Nervónico	0.195 ± 0.043	0.191 ± 0.050	0.221 ± 0.052	0.121 - 0.337	0.057 - 0.338	0,896	0,018

a Las muestras de composición se derivaron de nueve ensayos de campo realizadas en Canadá y EUA en 2014.
b Rango de resultados de seis líneas de referencia (Entradas F-K).
c Intervalo de tolerancia del 99%: Rango de líneas de referencia según los intervalos de tolerancia especificados para contener 99% de la población con un 95% de confianza..
d Valor de p en la prueba T: Comparación pareada con la contraparte convencional no GM (Entrada A).
NA= No Aplica. Debido a que más de 1/3 de los valores son <LDC. Se informa el mínimo y el máximo en lugar de la media y la desviación estándar.

Minerales en grano.

No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 no tratado con herbicida específico para rasgo (Entrada B) para ninguno de los minerales.

No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y la MS11 tratado con herbicida específico para rasgo (Entrada C) para el calcio, el hierro y el manganeso.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las contrapartes convencionales no GM (Entrada A) y MS11 tratado con herbicida específico para rasgo (Entrada C) para cobre, magnesio, fósforo, potasio y zinc. Sin embargo, los medios para todas las entradas, para todos los minerales, estaban dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Ver en la tabla 4 los resultados

Tabla 4. Comparación de Minerales en el grano de MS11 con su contraparte convencional no GM [a] (mg/kg DW).

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	MS11 No tratado (Entrada B)	MS11 Tratado (Entrada C)	Rango de Variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [b]	Intervalo de Tolerancia en variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [c]	Prueba T de comparación A frente B [d]	Prueba T de comparación A frente C [d]
	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	p-valor	p-valor
Calcio	4885 ± 1102	4651 ± 718	5277 ± 1361	3540 - 7200	2359 - 7211	0,360	0,078
Cobre	4.33 ± 0.79	4.29 ± 0.94	4.68 ± 0.91	2.91 - 7.25	1.57 - 6.27	0,966	<.001
Hierro	131.6 ± 85.1	119.6 ± 75.8	158.5 ± 95.6	46.4 - 844.0	0 - 461.9	0,731	0,264
Magnesio	3659 ± 438	3654 ± 413	3938 ± 560	2210 - 4610	2126 - 5060	0,126	<.001
Manganeso	39.4 ± 7.5	38.1 ± 6.7	38.4 ± 5.4	27.7 - 55.9	20.3 - 60.5	0,675	0,148
Fósforo	7947 ± 1450	8219 ± 1540	8674 ± 1253	4870 - 12100	2316 - 13044	0,450	0,003
Potasio	8577 ± 1374	8865 ± 1424	9516 ± 1667	4770 - 11400	3672 - 12636	0,144	<.001
Sodio	<LOQ - 416	<LOQ - 786	<LOQ - 590	<LOQ - 955	NA	NA	NA
Zinc	48.4 ± 8.8	50.2 ± 9.6	54.1 ± 9.3	29.5 - 68.1	21.8 - 70.3	0,211	<.001

a Las muestras de composición se derivaron de nueve ensayos de campo realizadas en Canadá y EUA en 2014.
b Rango de resultados de seis líneas de referencia (Entradas F-K).
c Intervalo de tolerancia del 99%: Rango de líneas de referencia según los intervalos de tolerancia especificados para contener 99% de la población con un 95% de confianza.
d Valor de p en la prueba T: Comparación pareada con la contraparte convencional no GM (Entrada A).
NA= No Aplica. Debido a que más de 1/3 de los valores son <LDC. Se informa el mínimo y el máximo en lugar de la media y la desviación estándar.

Vitaminas en grano.

No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 no tratado con herbicida específico para la característica (Entrada B) para ninguna de las vitaminas.

No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y la MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) para alfatocoferol.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las contrapartes convencionales no GM (Entrada A) y MS11 tratado con herbicida específico para rasgo (Entrada C) para el gamma tocoferol y la vitamina K. Sin embargo, los promedios para todas las entradas, para todas las vitaminas estuvieron dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia. Ver en la tabla 5 los resultados.

Tabla 5. Comparación de Vitaminas en el grano de MS11 con su contraparte convencional no GM [a] (mg/kg DW).

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	MS11 No tratado (Entrada B)	MS11 Tratado (Entrada C)	Rango de Variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [b]	Intervalo de Tolerancia en variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [c]	Prueba T de comparación A frente B [d]	Prueba T de comparación A frente C [d]
	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	p-valor	p-valor
Tocoferoles							
Alfa Tocoferol	94.8 ± 11.6	93.5 ± 7.4	91.2 ± 10.9	47.8 - 151.0	48.0 - 154.9	0,356	0,436
Beta Tocoferol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ - 9.03	NA	NA	NA
Gamma Tocoferol	171 ± 29	165 ± 24	153 ± 29	96 - 381	44 - 326	0,316	0,028
Vitamina K	1.297 ± 0.410	1.286 ± 0.359	1.702 ± 0.604	0.668 - 2.050	0.168 - 2.140	0,891	0,002

a Las muestras de composición se derivaron de nueve ensayos de campo realizadas en Canadá y EUA en 2014.
b Rango de resultados de seis líneas de referencia (Entradas F-K).
c Intervalo de tolerancia del 99%: Rango de líneas de referencia según los intervalos de tolerancia especificados para contener 99% de la población con un 95% de confianza.
d Valor de p en la prueba T: Comparación pareada con la contraparte convencional no GM (Entrada A).
NA= No Aplica. Debido a que más de 1/3 de los valores son <LDC. Se informa el mínimo y el máximo en lugar de la media y la desviación estándar.

Antinutrientes en grano.

No se observaron diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y la MS11 no tratada con un herbicida específico para la característica (Entrada B) o la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 tratada con un herbicida específico para rasgo (Entrada C) para 4-hidroxiglucobrasicina, glucobrasicina, ácido fítico, sinapina, taninos solubles o taninos

condensados totales.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas (p <0.05) entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y la MS11 no tratada con herbicida específica para la característica (Entrada B) y la contraparte convencional no GM (Entrada A) y la MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) para la gluconapina.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas (p <0.05) entre las contrapartes convencionales no GM (Entrada A) y MS11 no tratado con herbicida específico para la característica (Entrada B) para taninos insolubles.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas (p <0,05) entre las contrapartes convencionales no GM (Entrada A) y MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) para la progoitrina y los glucosinolatos totales. Sin embargo, los promedios para todas las entradas, para todos los antinutrientes estaban dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia; por lo tanto, las diferencias no son consideradas biológicamente relevantes. Ver en la tabla 6 los resultados.

Tabla 6. Comparación de Antinutrientes en el grano de MS11 con su contraparte convencional no GM[a] .

Parámetro	Contraparte convencional no GM (Entrada A)	MS11 No tratado (Entrada B)	MS11 Tratado (Entrada C)	Rango de Variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [b]	Intervalo de Tolerancia en variedades de referencia No GM (Entradas F-K) [c]	Prueba T de comparación A frente B [d]	Prueba T de comparación A frente C [d]
	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	(Min-Max)	(Interior-Superior)	p-valor	p-valor
Glucosinolatos (umol/g DW)							
4-Hidroxiglucobrasicina	3.93 ± 0.92	4.08 ± 1.03	4.19 ± 1.07	2.58 - 7.00	1.96 - 7.28	0,520	0,284
Epiprogoitrina	<LOQ - 0.238	<LOQ - 0.244	<LOQ - 0.294	<LOQ - 0.283	NA	NA	NA
Glucoalisina	<LOQ - 0.337	<LOQ - 0.381	<LOQ - 0.315	<LOQ - 0.631	NA	NA	NA
Glucobrasicanapina	<LOQ - 1.09	<LOQ - 1.15	<LOQ - 0.643	<LOQ - 1.04	NA	NA	NA
Glucobrasicina	0.391 ± 0.222	0.425 ± 0.204	0.479 ± 0.219	0.106 - 1.230	0 - 1.364	0,516	0,177
Gluconapina	2.09 ± 0.85	2.69 ± 1.11	2.99 ± 1.16	0.723 - 4.83	0 - 5.25	0,013	<.001
Gluconasturtina	<LOQ - 0.293	<LOQ - 0.39	<LOQ - 0.342	<LOQ - 0.391	NA	NA	NA
Glucorafanina	<LOQ - 0.579	<LOQ - 0.81	<LOQ - 0.706	<LOQ - 0.668	NA	NA	NA
Neoglucobrasicina	<LOQ - 0.525	<LOQ - 0.351	<LOQ - 0.426	<LOQ - 0.574	NA	NA	NA
Progoitrina (umol/g DW)	5.48 ± 2.75	5.88 ± 2.86	7.38 ± 3.51	1.49 - 14.10	0 - 13.67	0,601	0,001
Glucosinolatos totales	12.3 ± 4.1	13.7 ± 4.2	15.8 ± 4.8	6.25 - 24.9	0.673 - 26.6	0,179	<.001
Ácido fitico (% DW)	2.11 ± 0.43	2.18 ± 0.46	2.29 ± 0.30	1.04 - 3.48	0.31 - 3.78	0,698	0,051
Sinapina (% DW)	0.717 ± 0.060	0.738 ± 0.052	0.701 ± 0.087	0.351 - 0.894	0.337 - 1.022	0,526	0,739

Taninos insolubles (% DW)	0.403 ± 0.095	0.455 ± 0.110	0.458 ± 0.125	0.043 - 0.604	0 - 0.749	0,027	0,109
Taninos solubles (% DW)	0.099 ± 0.038	0.100 ± 0.047	0.134 ± 0.081	0.0204 - 0.2500	0 - 0.194	0,778	0,051
Taninos condensados totales (% DW)	0.503 ± 0.121	0.554 ± 0.147	0.591 ± 0.189	0.021 - 0.773	0 - 0.923	0,097	0,060

a Las muestras de composición se derivaron de nueve ensayos de campo realizadas en Canadá y EUA en 2014.
b Rango de resultados de seis líneas de referencia (Entradas F-K).
c Intervalo de tolerancia del 99%: Rango de líneas de referencia según los intervalos de tolerancia especificados para contener 99% de la población con un 95% de confianza.
d Valor de p en la prueba T: Comparación pareada con la contraparte convencional no GM (Entrada A).
NA= No Aplica. Debido a que más de 1/3 de los valores son <LDC. Se informa el mínimo y el máximo en lugar de la media y la desviación estándar.

Entre 92 analitos de composición, 57 presentaron niveles suficientes sobre el LDC para el análisis estadístico. De los 57 analitos que se analizaron estadísticamente, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 no tratado con herbicida específico para la característica (Entrada B) para dos analitos. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) para 30 analitos. El gran número de diferencias observadas en las entradas tratadas es el resultado de la polinización cruzada necesaria para generar semillas para el evento masculino estéril MS11. Sin embargo, los promedios de todos los analitos estaban dentro del rango de las variedades de referencia y los intervalos de tolerancia; reflejando que la inserción que resultó en este evento no resultó en ningún impacto no intencionado en la composición del grano de B. napus producido.

Análisis por planta.

Se examinaron los resultados por planta para los analitos, que mostraron diferencias significativas por plantas combinadas entre las contrapartes convencionales no GM (Entrada A) y MS11 no tratado con herbicida específico para la característica (Entrada B) (dos analitos) o contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) (30 analitos).

Hubo diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 tratado con herbicida específico para la característica (Entrada C) en más de la mitad de las plantas para humedad, grasa, fibra detergente neutra, lisina, ácido palmítico 16:0, ácido esteárico 18:0, oleico 18:1, ácido araquídico 20:0, ácido behénico 22:0, ácido lignocérico 24:0, fósforo, zinc y vitamina K. Esto es consistente con las observaciones en el análisis de plantas combinadas, como resultado de la polinización cruzada necesaria para generar semillas para el evento MS11 estéril masculino.

Para los analitos restantes donde hubo diferencias significativas entre la contraparte convencional no GM (Entrada A) y MS11 no tratado con herbicida específico para rasgo (Entrada B) o la contraparte convencional no GM (Entrada A) y tratada con MS11 con herbicida específico para rasgo (Entrada C), menos de la mitad de las plantas mostraron diferencias significativas.

Conclusiones
De los 57 analitos evaluados, se observaron diferencias estadísticamente significativas para solo dos analitos (gluconapina y taninos insolubles) entre la contraparte convencional no modificada genéticamente (GM) (Entrada A) y la línea no tratada de MS11 (Entrada B). Al comparar la contraparte convencional no GM y MS11 tratados con herbicida específico para la característica (Entrada C), 30 analitos fueron estadísticamente diferentes, lo que refleja la contribución del polen de otras parcelas dentro del campo a las flores estériles masculinas de MS11. Sin embargo, en todos los casos, los medios para todos los analitos estaban dentro del rango de las variedades de referencia y dentro de los intervalos de tolerancia para las variedades de referencia. Por tanto, las diferencias estadísticas significativas no se consideran biológicamente relevantes.

Según el análisis de la composición, los niveles de nutrientes y antinutrientes en el grano de MS11 son equivalentes a los de las variedades de referencia de B. napus.

Probabilidad de ocurrencia
De acuerdo a los estudios realizados por el solicitante, es ***Poco Probable*** que la Canola MS11 genere impactos negativos en la nutrición animal, ya que no se han observado cambios relevantes en su composición nutricional.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia
En caso de que la Canola MS11 mostrará algún cambio en su composición nutricional, que genere algún impacto negativo en la nutrición animal, se podrían presentar cambios en el crecimiento animal, bajo rendimiento y desnutrición que podrían afectar la salud animal a largo plazo, si no se realizara una acción correctiva de suplemento nutricional. Se considera que las consecuencias son ***Menores***.

Estimación del riesgo
Se concluye que la Canola MS11 es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional excepto por las características nuevas introducidas, y que la probabilidad de que ocurra un riesgo nutricional por la expresión o la presencia de las proteínas transgénicas se considera ***Insignificante***.

A continuación, se detallan en forma resumida los resultados del análisis de riesgo:

CANOLA EVENTO MS11

¿Existe familiaridad basada en introducciones con historial de uso seguro?

Si. El evento Canola MS11 tiene aprobación de uso en los países Australia, Canadá, Nueva Zelanda, Filipinas, Corea del Sur, Taiwán y Estados Unidos.

¿Es la planta modificada genéticamente un producto de métodos genéticos clásicos?

No. La Canola evento MS11 ha sido producida mediante modificación genética mediada por Agrobacterium tumefaciens.

¿La planta modificada genéticamente, es fenotípicamente equivalente a un producto de un método clásico?

SI. Los resultados de la evaluación de la composición de nutrientes demostraron que la composición de nutrientes del forraje y del grano derivado de la Canola MS11 es comparable a la de la Canola convencional representado por el Canola de control cercano a la isolínea no modificado genéticamente y la Canola comercial no modificada genéticamente.

¿Puede haber cruces con otras especies o con variedades cultivadas del género *Brassica* presentes?

No, la aplicación de la Canola MS11 es para uso como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, por lo tanto, no se prevé que haya cruces con variedades cultivadas del género *Brassica* o especies relacionadas.

III. EFECTOS POTENCIALES DEL CANOLA EVENTO MS11 EN EL AMBIENTE.

¿Hay cambios en la progenie obtenida por cruzamiento convencional?

No, el uso de la Canola MS11 es como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal, adicionalmente, el DNA genómico de la canola MS11 hibridado con la sonda T-DNA mostró los fragmentos de integración 5' y 3' esperados de 4900 pb y 4400 pb en todas las muestras analizadas de las generaciones T2, T3, F1, BC1 y BC2, lo cual demostró la **estabilidad** del evento MS11 a nivel genómico. Por lo tanto, no se prevé que haya cambios en la progenie obtenida por cruzamiento convencional.

¿Cuál es el modo de acción de las proteínas?

La canola MS11 fue obtenida a partir de la trasformación genética de la línea de canola convencional N90-740 mediante el sistema Agrobacterium utilizando el vector pTCO113. Este vector contiene los casetes de expresión de los genes barnasa, barstar y bar.

El gen barnasa derivado de la bacteria Bacillus amyloliquefaciens, codifica una ribonucleasa extracelular (RNasa) que se expresa únicamente en el tejido del tapetum de las anteras, donde es responsable de detener el desarrollo del polen.

El gen barstar derivado de la bacteria Bacillus amyloliquefaciens, codifica la proteína Barstar que es un inhibidor de la proteína Barnasa y fue incluido para mejorar la frecuencia de transformación.

El gen bar derivado de la bacteria Streptomyces hygroscopicus, codifica la enzima fosfinotricin acetil transferasa (PAT/bar) que confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio, esta característica fue utilizada como marcador para la selección de plantas transformadas durante el proceso de cultivo de tejidos y selección del evento MS11.

¿En qué parte de la planta se acumulan las proteínas transgénicas?

En la canola MS11 la expresión del gen de barnasa está bajo el control del promotor Pta29 específico del tapetum de las anteras. Por lo tanto, se espera que la proteína Barnasa se exprese específicamente en los botones florales durante el desarrollo de la antera. Los niveles de expresión de las proteínas PAT/bar y Barstar fueron cuantificables en la mayoría de las matrices y fueron similares entre la canola MS11 tratada y no tratada con herbicida glufosinato de amonio. Los niveles de expresión de la proteína Barnasa estuvieron por debajo del límite más bajo de cuantificación (<LLOQ) para todas las matrices analizadas.

¿Se esperan cambios en el consumo humano o animal?

No. El grano y el forraje provenientes de la Canola MS11, son nutricionalmente similares al grano y forraje del Canola convencional. Como se esperaba, no hay efectos no intencionales derivados de la expresión del evento conjunto.

IV. RECOMENDACION

Teniendo en cuenta:

1. Que la Canola MS11 tiene muy pocas posibilidades de convertirse en supermaleza o en maleza persistente.

2. Que la Canola MS11 posee un riesgo insignificante de transferir genes a variedades criollas o plantas sexualmente compatibles.

3. Que la Canola MS11 posee un riesgo insignificante de afectar poblaciones de organismos no blanco.

4. Que la inocuidad de las proteínas expresadas ya ha sido evaluada, en diferentes ensayos y analizada a través de Bioinformática, sin que se haya evidenciado algún potencial tóxico o alergénico.

5. Que la calidad nutricional de la Canola MS11 es equivalente a su contraparte no transgénica.

En virtud de lo anterior,

Se propone al CTNBio recomendar al ICA autorizar, a BASF QUÍMICA COLOMBIANA S.A., el uso de la Canola **MS11** como alimento directo o como materia prima para la elaboración de alimentos de consumo animal.