EVALUACION DE RIESGOS DEL MAÍZ Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, PARA CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

Nombre del solicitante	***Nombre del contacto***
SYNGENTA S.A	Andrés Álvarez Ángela María Lenis G. Victoria Peña
Dirección del solicitante	***Dirección del contacto***
Carrera 7ª. No. 114-43 Piso 11, Bogotá	Carrera 7ª. No. 114-43 Piso 11, Bogotá

Nombre del producto (Identificador Único y otros nombre)
Identificador OECD: SYN-BTØ11-1 x SYN-IR162-4 x MON-89Ø34-3 x MON-ØØØ21-9
Otros Nombres: Maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21.
Nombre Comercial: Agrisure Viptera 3330

Objetivo de la solicitud
Aprobación para utilizar Maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.

Aprobaciones y usos en otros países:
El evento Bt11 ha sido aprobado en Argentina, Australia, Brasil, Canadá, China, Unión Europea, Indonesia, Japón, Malasia, México, Nueva Zelanda, Paraguay, Filipinas, Federación Rusa, Sur África, Corea del Sur, Suiza, Taiwán, Tailandia, Turquía, Estados Unidos, Uruguay y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra.

El evento MIR162 ha sido aprobado en Argentina, Australia, Brasil, Canadá, China, Unión Europea, Indonesia, Japón, Malasia, México, Nueva Zelanda, Paraguay, Filipinas, Federación Rusa, Sur África, Corea del Sur, Taiwán, Turquía, Estados Unidos y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra.

El evento MON89034 ha sido aprobado en Argentina, Australia, Brasil, Canadá, China, Unión Europea, Honduras, Indonesia, Japón, Malasia, México, Nueva Zelanda, Paraguay, Filipinas, Federación Rusa, Singapur, Sur África, Corea del Sur, Taiwán, Tailandia, Turquía, Estados Unidos y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra.

El evento GA21 ha sido aprobado en Argentina, Australia, Brasil, Canadá, China, Unión Europea, Indonesia, Japón, Malasia, México, Nueva Zelanda, Paraguay, Filipinas, Federación Rusa, Sur África, Corea del Sur, Taiwán, Tailandia, Turquía, Estados Unidos, Uruguay y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra.

El evento Bt11 x MIR162 ha sido aprobado en Argentina, Unión Europea, Japón, Filipinas, Corea del Sur y Taiwán, Tailandia para consumo humano y/o animal y/o siembra.

El evento Bt11 x GA21 ha sido aprobado en Argentina, Brasil, Canadá, China, Unión Europea, Japón, México, Paraguay, Filipinas, Sur África, Corea del Sur, Taiwán, Tailandia, Turquía, Uruguay y Vietnam para consumo humano y/o animal y/o siembra.

El evento Bt11 x MIR162 x GA21 ha sido aprobado en Argentina, Brasil, Canadá, Unión Europea, Japón, México, Paraguay, Filipinas, Sur África, Corea del Sur, Taiwán y Uruguay para consumo humano y/o animal y/o siembra.

El evento Bt11 x MON89034 x GA21 ha sido aprobado en Argentina para consumo humano y/o animal y/o siembra.

El evento MIR162 x GA21 ha sido aprobado en Argentina, Unión Europea, Japón y Paraguay para consumo humano y/o animal y/o siembra.

El evento MIR162 x MON89034 ha sido aprobado en Argentina para consumo humano, animal y siembra.

El evento MIR162 x MON89034 x GA21 ha sido aprobado en Argentina para consumo humano, animal y siembra.

El evento MON89034 x GA21 ha sido aprobado en Argentina para consumo humano, animal y siembra.

El evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 ha sido aprobado en Argentina y Corea del Sur para consumo humano y/o animal y/o siembra.

Algún otro uso aprobado en el país:

El evento conjunto Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, tiene recomendación de autorización para consumo humano. Sin embargo cada uno de los eventos individuales ya han sido aprobados.

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores:
Familia: *Poaceae*
Género: *Zea*
Especie: *Zea mays*
Cultivar/línea: Cruce entre líneas portadoras de los eventos Bt11, MIR162, MON89034 y GA21.
Nombre común: Maíz

2. Descripción de la modificación genética:

El evento Maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 se logró por cruzamiento convencional de líneas portadoras de los eventos Bt11, MIR162, MON89034 y GA21.

A continuación se describe cada uno de los eventos individuales:

Evento Bt11:
El evento Bt11 fue desarrollado a través de transferencia directa a los protoplastos de maíz de la línea H8540 y posterior regeneración en medio selectivo. La transformación de protoplastos se realizó mediante electroporación aprovechando la acción sinérgica del MgCl2 y el Polietilen-Glicol (PEG).

Para la construcción genética, se utilizó el plásmido pZO1502 que contenía una copia de la secuencia de expresión del gen *cry1Ab* derivado de la bacteria *B. thuringiensis* subs. *kurstaki* que codifica para la delta-endotoxina Cry1Ab toxica para ciertos insectos lepidópteros que tengan los receptores específicos para esta proteína, en el epitelio del intestino medio; y una copia sintética del gen *pat* derivado del actinomiceto aerobio del suelo, *Streptomyces viridochromogenes* (Cepa Tu494), que codifica para la enzima fosfinotricina-N-acetil transferasa, la cual desactiva el componente activo (L-fosfinotricina) de los herbicidas a base de Glufosinato de Amonio.

Evento MIR162
El Maíz MIR162 se desarrolló por transformación genética mediada por la bacteria *A. tumefaciens* (cepa LBA4404) utilizando el plásmido binario pNOV1300 como vector de clonación. La replicación del vector pNOV1300 se hizo posible vía recombinación homóloga con otro vector aceptor que lleva un plásmido Ti desarmado, al cual se le borró la sección del T-DNA. Este plásmido Ti desarmado lleva los genes *vir* que codifican para proteínas que se requieren para transferir la región T-DNA del plásmido pNOV1300 a las células de la planta para integración al genoma de *Z. mays*.

Se utilizaron dos construcciones genéticas que se insertaron de manera consecutiva en el genoma del maíz. La primera inserción contiene la secuencia de expresión del gen *vip3Aa20* que codifica para la proteína insecticida Vip3Aa de *B. thuringiensis* (cepa AB88), tóxica para ciertos insectos lepidópteros, el cual se encuentra bajo el control del promotor del gen de la poliubiquitina de *Z. mays*, y la secuencia 35S 3' de poliadenilación del Virus del Mosaico de la Coliflor. La segunda inserción genética está constituida por el gen *pmi* de *E. coli* cepa K-12 regulada bajo el promotor del gen de la poliubiquitina de *Zea mays*, y la secuencia de la Nopalina Sintasa (NOS) de *A. tumefaciens* para generar una señal de poliadenilación.

El gen *pmi* codifica para la proteína Fosfomanosa-isomerasa que cataliza la interconversión reversible de la manosa-6-fosfato y la fructosa-6-fosfato. En la construcción se utiliza como gen de selección de transformación, al permitirle a las células vegetales utilizar la manosa como fuente principal de carbono y sobrevivir en medios de cultivo que contengan manosa.

Evento MON89034
El maíz MON89034 se desarrolló por transformación de maíz mediada por *A. tumesfaciens*. Para esto, se utilizó el vector binario PVZMIR245 que contenía dos regiones de T-DNA. En la primera región se insertaron las secuencias de expresión de los genes *cry1A*.105 y *cry2Ab2*. El gen cry1A.105 es un gen sintético de *Bacillus thuringiensis* compuesto por 4 subunidades procedentes de otros genes *cry* utilizados con anterioridad en plantas transgénicas; los aminoácidos del dominio I proceden de la proteína Cry1Ab, los del dominio II de la proteína Cry1Ac, los del dominio III de la proteína Cry1F y los del dominio C-terminal de la proteína Cry1Ac. El grado de similitud

de la proteína Cry1A.105 con las proteínas Cry1Ac, Cry1Ab y Cry1F es 93.6%, 90.0% y 76.7% respectivamente.

La construcción del gen *cry1A*.105 incluyó el promotor P-e35S del Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV) con una región potencializadora duplicada (enhancer), la secuencia no traducida 5' de la clorofila a/b del trigo (proteína de unión - LCab), el intrón del gen de la Actina del arroz (I-*Ract1*) y la región 3' no traducida de la secuencia de la proteína de choque térmico del trigo 17 (T-*Hsp17*), que termina la transcripción y le proporciona la señal de poliadenilación al mRNA. Cada una de las secuencias codificadoras fue modificada para optimizar su expresión en plantas monocotiledóneas.

La región promotora del gen *cry2Ab2* (gen de *B. thuringiensis* subs. Kurstaki), está formada por el promotor 35S del Virus del Mosaico de la Escrofularia (P-FMV) y el primer intrón de la proteína 70 de choque térmico del maíz (gen I-*Hsp70*), la secuencia *cry2Ab2*, la región del péptido de tránsito al cloroplasto, de la subunidad de Ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa del maíz, incluyendo el primer intrón (TSSSU-CTP), y la región 3' no traducida, codificante de la Nopalina Sintasa (T-*nos*) de *A. tumefaciens*, que termina la transcripción y proporciona la señal de poliadenilación.

La segunda región, contiene la secuencia de expresión de la proteína NPTII (Neomicina fosfotransferasa II) junto con el promotor (P-*E35S*) del virus del Mosaico del Coliflor (CaMV 35S), y la región T-nos de *A. tumefaciens*, que termina la transcripción y proporciona la señal de poliadenilación.

El gen *nptII* se utilizó como marcador de selección para el aislamiento y la regeneración de las plantas transgénicas. Una vez que las plantas transgénicas fueron regeneradas, el gen marcador de selección fue retirado por fitomejoramiento convencional, de tal forma que las líneas transgénicas únicamente contienen los genes *cry1A*.105 y *cry2Ab2*.

Evento GA21

Para desarrollar la línea de Maíz GA21, se realizó una transformación genética con el método de aceleración de partículas o microbombardeo, utilizando un fragmento de ADN de 3.4 Kb, derivado del plásmido pDPG434. Este plásmido contiene el gen endógeno *mepsps* aislado de la línea de Maíz AT- 824 y codifica para la enzima 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfatosintasa doble mutada (mEPSPS). Las plantas de maíz portadoras de este gen presentan tolerancia al ingrediente activo glifosato ya que la afinidad de este con la enzima mEPSPS es baja con parada con la EPSPS del Maíz convencional.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Tipo de modificación genética

Inserción	*Deleción*	*Sustitución de bases*	*Fusión celular*	*Otro:* *Convencional*

2. Método usado para transformar la planta:

El evento maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 se logró por cruzamiento convencional de líneas portadoras de los eventos Bt11, MIR162, MON89034 y GA21.

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

Funciones de cada elemento del T-DNA insertado en cada uno de los parentales:

Evento Bt11

Elemento	Tamaño aprox. (Kb)	Origen y función
Componentes del casete de expresión — gen cry1Ab		
35S	0,514	Promotor 35S del Virus del Mosaico del Coliflor-CaMV (Franck et al., 1980)
IVS6	0,472	Potencializador Intrón del gen alcohol deshidrogenasa 1S (Adh-1S) de Z. mays (Dennis et al., 1984)
cry1Ab	1,845	Versión sintética modificada del gen cry1Ab de *B. thuringiensis var. kurstaki* cepa HD1. Las modificaciones no dieron lugar a cambio en los aminoácidos de la proteína (Geiser et al., 1986; Murray et al., 1989).
nos 3	0,270	Región 3' no traducida del gen nopalina sintasa de A. tumefaciens como señal de finalización y poliadenilación (Depicker et al., 1982; Bevan et al., 1983).
Componentes del casete de expresión – gen pat		
35S	0,551	Promotor del virus del mosaico de la coliflor (CaMV) (Franck et al.; 1980). El promotor 35S de CaMV es una región no codificadora de ADN que controla la expresión del ARN 355.
IVS2	0,178	Potencializador. Intrón del gen alcohol deshidrogenasa 1S (Adh-1S) de Z. mays. (Freeling and Bennett, 1985). Se utilizó para aumentar la expresión del gen.
pat	0,558	Gen de la fosfinotricina N-acetil transferasa (pat) de *S. viridochromogenes*_ La secuencia nativa fue modificada para optimizar la expresión en plantas. La secuencia de aminoácidos no es alterada La secuencia de aminoácidos figura inalterada (Strauch et al.; 1988).
nos 3'	0,220	Región 3' no traducida del gen nopalina sintasBa (nos) de *A. tumefaciens* como señal de finalización y poliadenilación. (Depicker et al.; 1982; Bevan et al.; 1983).

Evento MIR162

Elemento	Tamaño aprox. (bp)	Origen y función
Casete gen vip3Aα19		
ZmUbilt	1993	Región promotora de Z. mays del gen de poliubiquitina que contiene el primer intrón (EntrezTM Accession Number S94464 (NCBI, 2006)). Provee expresión constitutiva en monocotiledóneas (Christensen et al., 1992).
Vip3Aα19	2370	Una versión modificada del gen nativo vip3Aα1 (Estruch et al., 1996) encontrado en *B. thuringiensis* cepa AB88, que fue aislada de leche agria, El gen vip3Aα19 fue modificado para acomodar el uso preferencial de codones en maíz (Murray et al 1989). El gen vip3Aα19 (EntrezTM accesión number DQ539887 (NCBI, 2006) codifica para una proteína Vip3Aa19 que difiere de la proteína Vip3Aa1 codificada por el gen vip3Aa1 en un solo aminoácido en la posición 284. El gen vip3Aa1 codifica para lisina en la posición 284 y el gen vip3Aa19 codifica glutamina, Las proteínas Vip3Aa confieren tolerancia a algunos insectos lepidópteros. El gen vip3Aa19 del plásmido NOV1300 difiere del gen vip3Aa20 en el

		maíz MIR162 por dos cambios de nucleótidos. Uno de esos cambios resulto en un cambio de aminoácido en la proteína codificada, mientras que el otro fue una mutación silenciosa.
Ipepc9	108	Intron #9 del gen fosfoenolpiruvato carboxilasa (EntrezTM Accession Number X15239 (NCBI, 2006)) de *Z. mays* (Matsuoka and Minami, 1989).
Finalizador 35S	70	Secuencia finalizadora del 35S RNA del genoma del virus del mosaico de la coliflor (Similar to EntrezTM Accession Number AF140604 (NCBI, 2006)). Su función es proveer una secuencia de poliadenilación (Franck et al., 1980).
Casete gen pmi		
ZmUbiInt	1993	Región promotora del gen de la poliubiquitina de Z. mays el cual contiene el primer intrón (EntrezTM Accession Number S94464 (NCBI, 2006). Provee expresión constitutiva en monocotiledóneas (Christensen et al., 1992).
Pmi	1176	El gen pmi de *E. coli* codifica la enzima fosfomanosa isomerasa (PMI) (EntrezTM Accession Number M15380 (NCBI, 2006)); también se conoce como monA. Cataliza la isomerización de la manosa-6-fosfato a fructosa-6-fosfato (Negrotto et al., 2000).
Finalizador NOS	253	Secuencia finalizadora del gen de la nogalina sintasa de *A. tumefaciens* (EntrezTM Accession Number V00087 (NCBI, 2006)). Su función es proveer un sitio de poliadenilación (Depicker et al., 1982).

Evento MON89034

Elemento	Tamaño aprox. (Kb)	Origen y función
Borde izquierdo	0.24	Región de ADN que contiene el Borde izquierdo para la transferencia del T-DNA al genoma del vegetal.
P-e35S	0.61	Promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV) con la región potenciadora duplicada. El promotor 35S de CaMV es una región no codificadora de ADN que controla la expresión del ARN 35S (Odell et al., 1985, Kay et al., 1987).
L-Cab	0.06	Secuencia líder no traducida del extremo 5' de la proteína de unión de la clorofila a/b de trigo (Lamppa et al., 1985).
I-ract1	0.48	Un intrón del gen de la actina del arroz (McElroy et al., 1991).
CS-cry1A.105	3.53	Una versión modificada del gen cry1A de B. thuringiensis, Con los dominios de la Cry1Ab, Cry1Ac y Cry1F (datos de MONSANTO).
T-Hsp17-3'	0.21	Secuencia 3' de la proteína de choque térmico del trigo (17-3), que termina la transcripción y dirige la poliadenilación (McElwain and Spiker, 1989).
P-FMV	0.56	Promotor 35S del virus del mosaico de la escrofularia (Figwort mosaic virus) (Rogers, 2000).
I-Hsp70	0.80	Primer intrón del gen 70 de la proteína de choque por calor del maíz (Brown and Santino, 1994)
TS-SSU-CTP	0.40	Región de ADN que contiene la secuencia del péptido de tránsito al cloroplasto de la subunidad pequeña de la ribulosa 1 ,5-bisfosfato carboxilasa del maíz y el primer intrón (Matsuoka et al., 1987)
CS-cry2Ab2	1.90	Secuencia sintética codificante de la proteína Cry2Ab2de *B. thuringiensis*. Es secuencia emplea codones modificados para mejorar su expresión en plantas de maíz (Widner and Whitely, 1989; Donovan 1991)
T-nos	0.25	Secuencia 3' de terminación de la transcripción del gen nopalina sintasa (nos) de *A. tumefaciens* que termina la transcripción y dirige la poliadenilación (Bevan et al., 1983)

Evento GA21

Elemento	Tamaño aprox. (Kb)	Origen y función
Promotor de intrón de actina del arroz	1.4	Región 5' del gen actina 1 del arroz (*Oryza sativa*) que contiene el promotor, el primer exón y el primer intrón (McElroy et a1., 1990). Proporciona la expresión constitutiva del gen mepsps.
Péptido de transición optimizado (PTO)	0.4	Péptido N-terminal de transición al croroplasto (CTP) basado en las secuencia de CTP de girasol (*Helianthus annus*) y maíz (*Zea mays*). Dirige la proteína modificada 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (mEPSPS) al cloroplasto (Lebrun, et al., 1995)
Gen mutante del maíz epsps	1.3	Secuencia que codifica para la proteína mEPSPS en el maíz modificado Zea mays L., que confiere tolerancia al i.a. glifosato (Lebrun et al., 2003).
Extremo nos 3’	0.3	Región 3' no traducible del gen nopalina sintasa del ADN-T de *Agrobacterium tumefaciens*, que termina la transcripción y dirige la poliadenilación del ARNm (Depicker et al., 1932).

4. Diferencias del evento y Cultivar convencional:

En principio, el evento de maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 es sustancialmente equivalente al maíz convencional.

En términos generales, este evento de maíz, no presenta diferencias biológicas significativas con respecto a los maíces convencionales. Los estudios de características agronómicas y nutricionales, muestran que no habría diferencias significativas entre el evento conjunto, los eventos individuales y los testigos convencionales.

La gran diferencia se basa en la expresión de ocho proteínas transgénicas, que fueron introducidas por el cruce de los cinco eventos transgénicos, las cuales son: VIP3Aa20, Cry1Ab, PAT, Cry1A.105, Cry2Ab2, mEPSPS.

5. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto

Análisis moleculares indican que los transgenes de cada uno de los eventos individuales (Bt11, MIR162, MON89034 y GA21), se ha integrado de forma estable en el genoma del hibrido Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21.

Se realizaron análisis de *Southern Blot* al evento Maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, y a cada uno de los eventos individuales usados para obtener el evento apilado. Las bandas de hibridación obtenidas fueron las esperadas según análisis previos. Todas las bandas de hibridación observadas corresponden a las presentadas en los eventos simples, lo que indica que los insertos se han integrado de forma estable en el híbrido.

Utilizando la prueba ELISA se midió y comparó los contenidos de proteína en el evento apilado y en los eventos individuales desde muestras de hojas, polen, raíces y plantas completas, que fueron sembradas en la misma localidad y al mismo tiempo. Los resultados mostraron que las concentraciones, de las proteínas contenidas en el evento apilado, Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, fueron similares a los contenidos en los eventos de maíz individuales (Bt11, MIR162, MON89034 y GA21).

En resumen, los análisis indican que los insertos se han integrado y se expresan de

forma estable en el híbrido Maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21.

JUSTIFICACIÓN DE LA INTRODUCCIÓN DEL MAÍZ Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21.

Durante el año 2015 se sembraron en el país unas 514.854 hectáreas de maíz tecnificado (Anuario estadístico, 2015), lo que lo hace un cultivo de importancia económica y social para el país.

Colombia por ser un país localizado en zona tropical, presenta una alta incidencia de plagas que afectan el cultivo de maíz y que reducen de manera significativa su rendimiento y productividad. El orden lepidóptera, blanco de una de las tecnologías, tiene por lo menos ocho (8) familias con diecinueve (19) tipos diferentes de insectos que son capaces de atacar el cultivo, causando enormes pérdidas económicas al agricultor y disminuyendo la calidad del producto final.

La importancia que tiene para el maíz la competencia de la maleza depende de cuatro factores: la etapa de crecimiento del cultivo, la cantidad de maleza presente, el grado de carencia del agua y nutrientes y las especies de malezas. La maleza daña el cultivo principalmente al competir con él por la luz, el agua y los nutrientes. El maíz es muy sensible a la competencia durante el periodo crítico entre las etapas V3 y V8. Además es importante considerar a la maleza como reservorio de organismos que pueden tener como blanco a la planta de maíz, por lo que su presencia también debe tomarse en cuenta con relación al estado fitosanitario del cultivo.

Entre las plagas que más afectan al cultivo de maíz se encuentran: *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, S. exigua, *Diabrotica balteata* LeConte, *Diabrotica virgifera* LeConte, *Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber, *Diabrotica longicornis* (Say), *Diabrotica porracea* Harold, *Diabrotica* spp. y *Leptinotarsa decemlineata*. Las larvas de estas especies se alimentan de muchas estructuras de la planta, incluyendo hojas, estructuras florales, mazorca y raíces entre otras, lo cual causa una gran afectación en la producción si no se hace un control adecuado. Algunos de los adultos tambien consumen el follaje y los estambres dando lugar a mazorcas semivacías y de baja productividad. *D. virgifera* y *D. longicornis* han sido identificadas como vectores del virus moteado clorótico del maíz (MCMV) y del marchitamiento bacteriano de *Steward* (Clavijo y Notz, 1985; Willink, *et al.,* 1990; Chen and Stacy, 2003; García-Lara *et al.,* 2007; Deras-Florez, 2012).

En Colombia, se encuentran aprobados para siembra algunos maíces transgénicos con diferentes tecnologías, que presentan las características de resistencia a lepidópteros, coleópteros y/o tolerancia a la aplicación de herbicidas, lo cual ha permitido aumentar la competitividad del cultivo de maíz tecnificado. Estas tecnologías son herramientas que permiten alternar el control de plagas en los cultivos.

La siembra en el país del maíz evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, le permitiría al agricultor aumentar el número de alternativas de diferentes híbridos de maíz transgénico, como una herramienta importante dentro del Manejo Integrado del Cultivo, ya que se controlaría, con diferentes genes, insectos plagas del orden lepidópteros, así como la aplicación total de los herbicidas con I.A. Glufosinato de Amonio y Glifosato para el control de malezas.

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 QUE EL MAÍZ EVENTO Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 SE CONVIERTA EN MALEZA O INVADA AMBIENTES NATURALES

Caracterización del riesgo

Una maleza se puede definir como una planta que crece donde no lo desea el ser humano (FAO, 2002) o que crecen en lugares donde no son deseadas y que por lo general tienen efectos económicos, ambientales y/o sociales detectables y negativos (Richardson *et al*., 2000). De acuerdo a la primera definición, cualquier planta en algún momento puede considerarse como maleza. Sin embargo en este caso, para que la planta se considere maleza deberá causar algún daño en el cultivo o en el ecosistema.

Entonces desde el punto de vista agronómico, una "maleza" es un conjunto de plantas que se han adaptado a unas condiciones agroecológicas específicas y crecen de forma agresiva, junto a uno o varios cultivos, afectando su capacidad de producción y desarrollo normal por la competencia de agua, luz, nutrientes y espacio físico, y/o por la producción de sustancias nocivas para dichos cultivos. Desde este punto de vista, se puede deducir que el concepto de maleza es netamente antropológico.

Según FAO (2004), el daño causado por las malezas se da por diferentes problemas debido a:

- Su fuerte competencia con los cultivos por los nutrientes, el agua y la luz.
- La liberación de sustancias a través de sus raíces y sus hojas que resultan ser tóxicas a los cultivos, de tal manera que pueda competir con las plantas del cultivo.
- Creación de un hábitat favorable para la proliferación de otras plagas (artrópodos, ácaros, patógenos y otros) al servir de hospederas de éstas.
- Interfiriendo el proceso normal de cosecha y contaminando la producción obtenida.

[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.

El maíz es una planta anual ampliamente cultivada en el mundo cuya naturaleza no muestra características de persistencia o invasividad; en el medio ambiente no puede estar presente sin la intervención de la mano del hombre; a través del tiempo, no se ha observado su crecimiento como maleza.

Basados en la información del solicitante, las nuevas características del maíz evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, no han alterado las características biológicas que ha adquirido a través de su domesticación como son: la dormancia de la semilla, la no dehiscencia de la mazorca, y la poca habilidad de competencia de la planta.

De acuerdo a la experiencia, las semillas que por accidente llegan al campo o quedad allí después del cultivo, generalmente, son presa fácil de aves, insectos, hongos, bacterias y organismos descomponedores del suelo. La semilla y/o grano que permanece en el campo por más de 10 días después de la madurez fisiológica, sufre pérdida de vigor y germinación.

El medio típico de propagación del maíz es por semilla sexual, y las características particulares de la planta le confieren dificultad de diseminación sin la intervención humana, no siendo capaz de sobrevivir como planta invasora. En contraste con las plantas invasoras, el maíz tiene una inflorescencia femenina dispuesta en un raquis central duro envuelta por folíolos o capacho, lo cual dificulta la dispersión y la germinación de semillas individuales, cosa que dificulta fuertemente que se pueda convertir en una planta invasora.

Probabilidad de ocurrencia

De acuerdo a la información revisada, las características de reproducción, subsistencia, establecimiento y dispersión del maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, no ha cambiado comparándola con su contraparte convencional y de los eventos individuales. Por esta razón, es ***Poco Probable*** que el maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, sobreviva y persista en el ambiente como maleza, por la acumulación de las diferentes características transgénicas, presentes en los parentales individuales.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia.

Un aumento en la competitividad y/o persistencia de la planta transformada, podría causar que el maíz se convirtiera en maleza causando problemas agronómicos. Sin embargo, estos cambios no se han observado en *Zea mays* durante los largos periodos de adaptación y cultivo.

La experiencia en campo con otras líneas de maíz modificadas genéticamente que comparten estas mismas características, no han mostrado estas tendencias. Es así que, no se espera que el maíz evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 se transforme en maleza en ambientes agrícolas o que invada hábitats naturales.

En el caso que plantas de maíz voluntarias germinaran, estas son fáciles de identificar y controlar por medio de prácticas agronómicas y el uso de herbicidas; además si se

dispersarán semillas de maíz de Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, su vigor no permite que estas compitan fuertemente con las plantas establecidas. Las consecuencias para este riesgo se consideran ***Menores***.

Estimación del riesgo

Se puede concluir que el maíz evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, no exhibe tendencias de convertirse en maleza o que invada ambientes naturales o agrícolas. Teniendo en cuenta la probabilidad de ocurrencia y las consecuencias, este riesgo se considera ***Insignificante***.

B. POTENCIAL DEL MAÍZ EVENTO Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 PARA TRANSFERIR GENES A VARIEDADES CRIOLLAS O PLANTAS SEXUALMENTE COMPATIBLES

Caracterización del riesgo

El flujo de genes ocurre cuando el polen o semillas de áreas de cultivo se mueven hacia otra área (Hilbeck y Andow, 2004); sólo es significativo si entre las plantas hay: compatibilidad sexual, coincidencia en floración, condiciones ambientales favorables y si el híbrido es viable.

El maíz es una planta alógama por lo tanto, la polinización cruzada ocurre naturalmente entre variedades comerciales de *Z. mays* dependiendo de la distancia de las áreas cultivadas. Igualmente debe haber coincidencia en la floración de los materiales y presencia de los agentes transportadores del polen.

El maíz tiene flores unisexuadas: las flores masculinas se localizan en el extremo apical del tallo en la panoja, una inflorescencia ramificada; y las flores femeninas se encuentran en espigas compactas localizadas en los extremos de ramificaciones cortas cerca de la mitad del tallo. Esta disposición de las flores femeninas y masculinas en estructuras separadas distingue a la planta de maíz de otros cereales, y es la razón principal por la cual el maíz es un cultivo de polinización cruzada.

La polinización puede ser anemófila (por el viento), y la distancia que puede recorrer el polen viable depende del patrón de vientos prevaleciente, la humedad y la temperatura. El polen de maíz permanece viable menos de 24 horas luego de su liberación (la viabilidad promedio es inferior a las 3 horas). El polen de maíz se mueve libremente dentro de un área, se deposita sobre las barbas del mismo cultivar o de cultivares distintos, germina casi inmediatamente luego de la polinización, y dentro de las 24 horas completa la fertilización.

Para que ocurra el flujo génico por la vía normal de transmisión sexual, deben existir ciertas condiciones:

1. Los dos parentales deben ser sexualmente compatibles,

2. El período de fecundidad de ambos debe coincidir,

3. Debe existir un vector adecuado para el polen y ser capaz de transferir el polen entre los dos parentales.

4. La progenie resultante debe ser fértil y ecológicamente apta para el medioambiente en el que se sitúan.

De acuerdo a estudios realizados para determinar la efectividad de las distancias de aislamiento para controlar el flujo de genes, en diferentes zonas agroecológicas en Colombia, a 50m de la fuente de polen, la polinización cruzada fue inferior de 1% (ICA, 2006). En otros trabajos, realizados en diferentes partes, se concluyó que la polinización cruzada ocurría a una distancia máxima de 200m de la fuente de polen; a 10m contenían niveles inferiores a 0.9%, a 100m sólo un número limitado de polinización cruzada ocurría y a 300m no había evidencia de la ocurrencia de este fenómeno (Luna et al., 2001; Weber et al., 2007).

Para las condiciones ambientales de Córdoba, a una distancia de 40m de la fuente de polen, el porcentaje de polinización cruzada fue menor a 1% y a 100m se observó un máximo del 0.07%. En Tolima se encontró que a 50m de la fuente de polen, el porcentaje de polinización cruzada fue menor del 1% y a 100m el porcentaje máximo fue 0.32%. Así mismo, en ensayos de campo en el Valle del Cauca, se observó que a 70m el porcentaje de polinización cruzada fue inferior a 1% y un porcentaje de 0.21 a 100m.

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.

Probabilidad de ocurrencia

La transferencia de genes desde plantas de maíz genéticamente modificadas a maíces convencionales o viceversa, depende principalmente de las características del polen, las distancias entre las áreas sembradas, la coincidencia en el tiempo de floración, la dirección e intensidad del viento y las prácticas culturales de intercambio de semillas.

La viabilidad del polen de maíz está alrededor de 30 minutos; bajo condiciones ambientales, la viabilidad se reduce debido a factores como altas temperaturas, intensidad de luz ultravioleta y precipitaciones. Sin embargo por ser el maíz una especie alógama es posible que si se presentan las condiciones, haya algún tipo de intercambio genético entre los materiales

Bajo estas circunstancias, la probabilidad de ocurrencia de flujo de genes desde plantas trasformadas genéticamente hacia maíces criollos o híbridos convencionales, es la misma que se ha observado con los híbridos convencionales y variedades mejoradas utilizadas desde hace más de 40 años en Colombia sin ningún reporte de erosión genética observada hasta el momento.

Las características introducidas no confieren ningún rasgo que modifique las características iníciales del polen, es decir, no afecta su viabilidad, capacidad de dispersión etc. Teniendo en cuenta lo anterior es *Probable* que haya transferencia de genes a variedades criollas o plantas sexualmente compatibles

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia

Una transferencia de genes a maíces criollos o a híbridos convencionales, del híbrido Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, podría alterar su composición genética. Sin embargo, para que esto sea un problema, los genes deben establecerse en los maíces criollos o híbridos convencionales y desarrollar la habilidad de competir con aquellas plantas que no poseen la característica. Sin embargo hay que destacar que en Colombia no hay especies silvestres relacionadas con maíz ni tampoco es un país de origen.

Debido a que las características presentes en el evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, han sido evaluadas y no son peligrosas, las consecuencias de que se pudieran transferir a materiales relacionados se consideran ***menores***.

Estimación del riesgo

Se puede concluir que la probabilidad de que se transfieran genes desde el maíz evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 hacia variedades criollas y/o plantas sexualmente compatibles es *bajo*. Para prevenir cualquier riesgo de transferencia de genes se deben tener en cuenta consideraciones de bioseguridad y los planes de manejo de la biotecnología.

C. POTENCIAL DEL MAÍZ EVENTO Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 PARA AFECTAR A ORGANISMOS NO BLANCO.

Caracterización del riesgo

El maíz se viene consumiendo desde la prehistoria y no ha habido reporte de riesgos para la salud, de hecho es una de las principales fuentes de alimentación tanto para humanos como para animales.

En cuanto al maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 cada una de las proteínas transgénicas presentes en este evento conjunto, ya han sido evaluadas y probadas para establecer su inocuidad en organismos no objetivos (Proudfoot *et al.,* 1994a, 1994b; Noteborn *et al*., 1995; Kuhn, 1999; Davis *et al.,* 2002; Brake 2004, Draper 2007).

No existen razones para pensar que la patogenicidad, toxicidad y alergenicidad para los seres humanos del maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 sea diferente para el maíz (organismo receptor) y los organismos donantes.

La seguridad alimentaria de las proteínas Cry1Ab, PAT, Vip3Aa20, Cry1A.105, Cry2Ab2 y mEPSPS fue previamente comprobada en las evaluaciones realizadas para los eventos GA21, Bt11, MIR162 y MON89034 en agencias regulatorias en todo el mundo. Así mismo existen conclusiones de evaluaciones de seguridad publicadas (ILSI, 2011; OECD, 1999; ILSI, 2011b; OECD 1999b y Hérouet et al, 2005). Se ha demostrado que dichas proteínas no poseen características toxicas o alergénicas, para ello se consideran las siguientes evidencias:

1) Historia de uso: a) tanto las proteínas Cry1Ab, PAT, vip3Aa20, Cry1A.105 y Cry2Ab2 como las EPSPS son ubicuas en la naturaleza y por lo tanto estarán naturalmente presentes en los alimentos que deriven de fuentes vegetales, animales y/o microbianas; y b) ambas proteínas forman parte de diferentes eventos simples y/o acumulados que se utilizan en todo el mundo.
2) Estudios que descartaron similitud de secuencia con proteínas conocidas como tóxicas, o alergéncias.
3) Estudios de toxicidad aguda en ratones, que descartaron la ausencia de efectos adversos.
4) Sensibilidad de las proteínas al calor y al procesamiento, y rápida degradación en ensayos de digestibilidad in vitro.

Probabilidad de ocurrencia

La probabilidad que un efecto adverso ocurra después de la exposición de las proteínas expresadas en el maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 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 el maíz evento maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21. Sin embargo y de acuerdo a la información entregada por el solicitante y la historia de uso seguro, se puede deducir que las proteínas expresadas en el maíz evento maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, no son tóxicas para humanos, otros vertebrados y artrópodos no blanco. En este orden de idea, se considera que las consecuencias en caso de ocurrencia de que el maíz evento maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, afecte poblaciones de organismos no blanco se consideran *Intermedias*.

Estimación del riesgo

Se considera que la estimación del riesgo que el maíz evento maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 afecte poblaciones de organismos no blanco es ***Bajo***.

D. POTENCIAL QUE LAS PROTEÍNAS INTRODUCIDAS EN EL EVENTO MAÍZ Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 PUEDAN SER ALERGÉNICAS Y/O TÓXICAS.

Caracterización del riesgo

Las Alergias alimentarias son reacciones adversas a un alimento o a un componente de un alimento, por lo demás inocuo, que causan o pueden promover diferentes tipos de reacciones inmunológicas (Sampson y Burks, 1996), como respuesta a la presencia del alimento o de la proteína.

Las alergias alimentarias representan una fracción pequeña del total de las que se presentan y generalmente involucran anticuerpos de la inmunoglobulina E (IgE). En el caso que la alergia se dé por mediación de la IgE, generalmente son reacciones de hipersensibilidad inmediata y afectan más comúnmente a los lactantes y niños, alcanzando una prevalencia en menores de 3 años hasta del 5-8 por ciento (Sampson, 1990).

Para la medición del potencial alergénico de todo material transgénico, se evalúan algunas características que se presentan frecuentemente en proteínas alergénicas a través del método del árbol de decisiones (Ladics and Selgrade, 2009; Metcalfe *et al*., 1996), que en general incluye:

- La alergenicidad de la fuente de la proteína. Si la proteína proviene un organismo no alergénico, lo más probable es que la proteína tampoco lo sea.
- La proporción de la proteína en el contenido total de proteínas. Una de las características más destacas de las proteínas alergénicas conocidas, es que tienen una alta proporción en el total de proteínas del tejido o del organismo evaluado.

- Similitud estructural con alergenos conocidos, basados en la secuencia de aminoácidos. Se ha encontrado una alta relación entre las estructuras de las proteínas y la función que desempeñan.
- Estabilidad de la proteína en ensayos de digestión. Un parámetro clave que contribuye a la capacidad alergénica sistemática de ciertas proteínas presentes en los alimentos parece ser la estabilidad a las condiciones pépticas y acidas del sistema digestivo (Thomas *et al*., 2009; Kimber *et al*., 1999; Metcalfe *et al*., 1996; Astwood *et al*., 1996; Astwood and Fuchs, 1996). Sin embargo, la evidencia de la velocidad de la digestibilidad de las proteínas no necesariamente indica que la proteína es alergénico.

Las alergias alimentarias son causadas por una gran variedad de alimentos. La soya es un alimento que ha sido utilizado desde tiempos inmemoriales, sin embargo es conocido que sus granos crudos y algunos de sus productos poseen algunos elementos antinutricionales (inhibidores de proteasas, lectinas, fitoestrógenos, entre otros) y algunos alérgenos.

El Comité sobre Etiquetado de los Alimentos de la Comisión del Codex Alimentarius, sacó la lista de los alimentos más comunes que presentan proteínas con características alergénicas, entre ellos se encuentran el maní, la leche, los huevos, el pescado, los crustáceos, la soya, el trigo, cereales que contienen gluten y las nueces de algunos árboles.

En más de tres o cuatro décadas de aplicaciones foliares de preparaciones comerciales de *B. thuringiensis* como insecticida (p. ej. DipelTM, JavelinTM), no se han reportado reacciones alérgicas a la proteína por ingestión oral, dérmica o inhalación. Esta proteína es muy susceptible a degradación por la digestión en el tracto digestivo de los mamíferos. Datos de experimentos que simulan la digestión, muestran una vida media de estas proteínas en el sistema gástrico de 30 segundos. Por otro lado, la mayoría de las proteínas alergénicas son glicosiladas. La proteína Cry1Ab, extraída de plantas transgénicas como Bt11, no es glicosilada, pues no pasa por el retículo endoplásmico ni los cuerpos de Golgi (donde se glicosilan las proteínas) debido a que no tiene las señales necesarias para entrar en estos compartimientos celulares. Se han realizados estudios que comprueban que la proteína no es glicosilada (Meeusen & Mettler, 1994).

La mayoría de los alérgenos pueden presentarse como compuestos proteicos abundantes en ciertos alimentos (leche, soya, maní, etc.). La proteína Cry1Ab se presenta en niveles muy bajos, menos del 0,00047% del peso fresco del grano de maíz, y menos del 0,0094% del total de la proteína del grano. La secuencia de la proteína comparada con secuencias de alérgenos conocidos, no muestra ninguna similitud al nivel de péptidos inmunológicamente importantes (epítopes de 8 a 12 aminoácidos). Estos factores establecen una probabilidad muy baja de que una proteína Cry1Ab intacta, al ser ingerida y absorbida en la mucosa intestinal, desencadene la producción de anticuerpos, especialmente IgE, que son los responsables primarios de las reacciones alérgicas.

Para evaluar el potencial alergénico de la proteína fosfinotricina-N-acetil transferasa (PAT), se llevó a cabo una búsqueda en bases de datos y el resultado demostró que las "acetil-transferasas" como grupo no presentan alergenicidad reportada para mamíferos.

La proteína PAT es lábil al calor, lábil al medio ácido y altamente digerible. No se pudo establecer la generación de fragmentos de bajo peso molecular (peso molecular <6.000) durante los ensayos de digestibilidad in vitro. Sin embargo, estos posibles fragmentos se encuentran por fuera del rango de peso molecular de la mayoría de los alérgenos alimentarios. Una respuesta alergénica requiere una unión entre el alérgeno y las moléculas de anticuerpos IgE de la superficie de las células mastocito o basófilos. Las proteínas pequeñas suelen ser menos inmunogénicas y el peso molecular de 10.000 probablemente representa el límite inferior necesario para estimular una respuesta inmunogénica. Estos datos sugieren que la proteína PAT será digerida como proteína dietaria convencional en el ambiente gástrico común de mamíferos y no debería presentar ningún riesgo dietario para los humanos.

El Consensus Document of General Information Concerning the Genes and Their Enzymes that Confer Toierance to Phosphinothricin Herbickie de la OECD (OECD, 1999) establece que: "la proteína PAT no es un alérgeno conocido". Esta declaración está basada en la caracterización de la proteína, como así también en la búsqueda de homología en bases de datos (base de datos de ADN del GenBank, FASTADB, entre otros).

Los estudios referentes a homología de la secuencia de las proteína PAT con alérgenos conocidos ya se han presentado oportunamente como información del evento individual Bt11, con fecha de radicación 23/09/2005.

Estudios de bioinformatica mostraron que no hay homología entre la proteína Cry1F y alérgenos conocidos (Walters & Cressman, 2002). Pruebas de digestión en fluido gástrico simulado mostraron que la proteína Cry1F es degradada en menos de 15 segundos y no se detecta ningún fragmento luego de un minuto (Schafer & Korjagin, 2002). En fluido intestinal simulado la proteína Cry1F fue estable durante todo el ensayo (120 min) (EFSA, 2005).

Un estudio de bioseguridad de la proteína PAT, mostro que la proteína no presenta homología con ningún alérgeno conocido, carece de sitios de N-glucosilacion, es termo-inactivada después de 10 min a 55°C y rápidamente degradada en fluido gástrico simulado (pH 2) y fluido intestinal simulado (pH 7.5), en presencia de pepsina y pancreatina, respectivamente (Herouet et al., 2005; Sun et al., 2010). Pruebas de toxicidad aguda en ratones, mostraron que a dosis intravenosas de 10mg/kg de peso animal, no se detectaron efectos adversos significativos en los animales (Herouet et al., 2005).

De acuerdo con las recomendaciones del Codex ad hoc Intergovernmental Task Force on Foods derived from Biotechnology (CODEX, 2003), se utilizó una aproximación gradual e integrada para la evaluación del potencial de alergenicidad de la nueva proteína expresada, mEPSPS en el evento GA21, proveniente de la proteína EPSPS original de Zea mays. Los productos provenientes de Zea mays son ampliamente empleados en alimentación animal y en la cadena de alimentación del hombre no tienen historia de alergenicidad (FAO/WI-10, 2001). Los cambios en aminoácidos específicos a la proteína EPSPS fueron introducidos para conferir tolerancia a productos herbicidas que contengan el 1.a. glifosato; estos cambios no han producido cambios que indiquen una modificación del potencial alergénico de la proteína mEPSPS como se detalla a continuación. El evento GA21 fue aprobado para su uso comercial en varios países del

mundo y, dentro del conocimiento de Syngenta, no se reportaron casos de alergenicidad derivada de este maíz.

Se llevó a cabo una estudio bioinformático extensivo sobre homologías entre secuencias y similitudes estructurales entre la mEPSPS y alérgenos conocidos. Los resultados demostraron que la proteína mEPSPS de GA21 no mostró homología con proteínas alergénicas conocidas o putativas (Harper 2007)

Los estudios de homología de la secuencia de la proteína mEPSPS con alérgenos conocidos, degradación proteolítica en fluido gástrico simulado de mamífero (SGF) conteniendo pepsina y estabilidad de la proteína al calor ya se presentaron oportunamente como información del evento individual GA21, con fecha de radicación 11 de Julio del 2008.

En resumen, los resultados indican que la proteína mEPSPS expresada en plantas de maíz GA21 no presenta características que la señalen como potencial alérgeno.

Probabilidad de Ocurrencia
De acuerdo a los estudios realizados, es *poco probable* que las proteínas VIP3Aa20, Cry1Ab, PAT, Cry1A.105, Cry2Ab2, mEPSPS, expresadas en el maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, tengan algún efecto tóxico o alergénico.

Consecuencias potenciales en caso de ocurrencia
En caso de que las proteínas presentes en el evento de maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tengan alguna actividad alergénica podría causar trastornos en la salud humana y/o de los animales que podrían afectar su desarrollo normal y solo en casos severos, la muerte. En este sentido la consecuencia se califica como *intermedia*

Estimación del riesgo
Se puede concluir que el maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 posee un riesgo *insignificante* en cuanto a toxicidad y alergenicidad con respecto a su contraparte convencional.

E. IMPACTO EN LA NUTRICIÓN ANIMAL DEL MAÍZ Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21.

Caracterización del riesgo

El maíz junto con el trigo y el arroz, se constituyen en los cereales más importantes a nivel mundial. Se constituye en la materia prima básica para cientos de productos industriales, alimentación humana y animal.

Aproximadamente la mitad del maíz producido en los trópicos se consume directamente como alimento humano; cerca del 40% es usado como alimento animal y el resto está destinado a otros usos. El maíz es el alimento básico en muchos países sub-saharianos, en México y América Central, en el Caribe, en la región de los Andes y en parte del sur de Asia. En Brasil es usado sobre todo como alimento animal. En el norte de África, en Asia occidental, en Asia sudoriental y el Pacífico su uso está más uniformemente distribuido entre alimento humano y animal (FAO, 2001).

Componentes nutricionales claves en forraje y grano del híbrido de maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 fueron medidos y comparados con aquellos del maíz no transgénico, casi isogénico.

El maíz híbrido Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 fue cultivado en los Estados Unidos en el 2014 en cuatro (4) localidades en el 2014. En cada localidad se plantaron híbridos así:

- Maíz híbrido con el evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21,
- Maíz híbrido no transgénico, casi-isogénico

En un diseño de bloques completos al azar con 4 réplicas por genotipo. El forraje y grano fueron cosechados y analizados para nutrientes alimenticios claves, anti nutrientes y metabolitos secundarios; escogidos con base en las recomendaciones de la OECD, para la evaluación comparativa de la composición de nuevas variedades de maíz.

El forraje se analizó para proximales, calcio y fósforo y el grano para proximales, almidón, minerales, aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas, metabolitos secundarios, y anti nutrientes. Se usó análisis de varianza para testear los efectos de los genotipos e interacciones localidad-genotipo. Adicionalmente, los niveles promedio de componentes fueron comparados con los rangos de variación para maíces híbridos convencionales publicados en la base de datos del ILSI.

Para los granos de maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 no tratado, los niveles de 45 de los 57 componentes cuantificables no fueron significativamente diferentes con respecto al control. Se observaron incrementos significativos en los niveles de carbohidratos, cobre, vitamina B1, ácidos grasos linoleico 18:2 y ácido felurico. Igualmente se observaron disminuciones significativas en los niveles de proteína, β-caroteno, vitaminas B6 y E, histidina, triptófano. Ningunas de las mediciones, ni diferencias observadas entre los granos no tratados Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 y el control fueron mayores del 19% y en su mayoría fueron menores del 10%.

Para los granos de maíz no tratados de Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, los niveles medios de los componentes cuantificables se encontraron dentro de los rangos en comparación con los niveles de los componentes de los híbridos no transgénicos de referencia cultivados en las mismas localidades. En cada caso en que el nivel medio del grano de maíz no tratado Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 estaba fuera del rango

para los híbridos de referencia, no había tampoco ninguna diferencia estadísticamente significativa al compararlos con los niveles de control.

Para los granos de maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratados con herbicidas, los niveles de 41 de 57 de los componentes cuantificables no fueron significativamente diferentes en relación con el control. Se observaron incrementos estadísticamente significativos en los niveles de carbohidratos, NDF, TDF, cobre, potasio, vitaminas B1 y B3, ácido felurico y rafinosa. Igualmente se observaron disminuciones en los niveles de proteína, zinc, vitamina B6, prolina, histidina, ácidos grasos linoleicos 18:1. Ninguna de las mediciones, ni diferencias observadas entre los granos tratados de Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 y el control fueron mayores de 18% y en su mayoría fueron menos del 10%.

En todas las localidades los valores medios de los componentes cuantificables del maíz hibrido Bt11xTC1507xGA21 tratado con herbicida y sin tratar se encontraron dentro de los rangos de referencia con otros híbridos cultivados en la localidad. En cada caso en que el nivel medio del grano de maíz tratado de Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 estaba fuera del rango para los híbridos de referencia, excepto para los carbohidratos, no había tampoco ninguna diferencia estadísticamente significativa al compararlos con los niveles de control. Para los carbohidratos la diferencia fue solo del 0.87% y el nivel fue solo 0.2% más alto del rango de referencia de los híbridos (82.4 – 86.9%).

En el forraje, ninguno de los niveles de los componentes nutricionales difirió de forma significativa entre los genotipos y no se observaron diferencias significativas en las interacciones localidad x genotipo. Para todos los componentes medidos en el forraje, los niveles promedio (a través de las localidades y en cada localidad) se encontraron dentro de los rangos de variación para los híbridos de maíz convencional publicados en la base de datos del ILSI.

Basándose en estos datos, se ha demostrado que la mayoría de los componentes del maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 no tratado y tratado con herbicida no fue diferente de los resultados observados en el control y cuando se evidenciaron diferencias, los niveles medios estaban dentro de rangos considerados normales para el maíz convencional. Por lo tanto, la conclusión es que el forraje y grano de maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 no son sustancialmente diferentes en la composición de nutrientes en comparación con los maíces no transgénicos, casi isogénicas o los de maíz convencional. Los valores de todos los analitos se encontraron dentro de los rangos de las variedades de referencia reportadas por el ILSI.

Tabla 1. Composición proximal del forraje. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 (test) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Moisture	Protein	Fat	Ash	Carbohydrates	ADF	NDF
Test	mean	71.4	7.73	1.95	3.90	86.4	26.2	46.0
	range	68.2–73.4	6.62–9.89	1.19–3.01	2.56–5.06	82.2–88.8	21.4–31.2	36.9–55.4
Control	mean	70.7	7.90	2.11	4.26	85.7	24.7	43.9
	range	66.1–74.3	6.76–9.93	1.30–2.63	2.69–5.38	83.1–88.0	21.3–29.3	32.7–53.4
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)								
	p	0.332	0.495	0.244	0.214	0.081	0.247	0.329
	SEM	0.53	0.397	0.134	0.228	0.44	0.84	1.65
Reference hybrids	mean	69.3	7.76	2.39	3.58	86.3	24.2	41.3
	range	60.1–77.1	5.86–10.3	1.35–3.43	2.21–5.58	80.8–89.1	16.5–33.8	27.4–56.3
ILSI (2014)	mean	69.9	7.68	2.063	4.30	86.0	25.80	41.88
	range	48.8–82.0	3.14–15.20	<LOQ–6.755	0.66–13.20	74.3–92.9	9.90–47.39	20.29–67.80
	N	4316	3897	3873	4316	3897	4116	4116

Test: $N = 16$.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Proximate levels shown as percent dry weight, except moisture which is shown as percent fresh weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.

Tabla 2. Composición proximal del forraje. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratado con herbicida (test + TSH) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Moisture	Protein	Fat	Ash	Carbohydrates	ADF	NDF
Test + TSH	mean	71.7	7.86	2.35	3.82	85.9	26.1	44.7
	range	68.0–74.5	6.79–9.77	1.44–2.96	2.26–5.06	83.7–88.2	20.7–32.0	34.4–57.3
Control	mean	70.7	7.90	2.11	4.26	85.7	24.7	43.9
	range	66.1–74.3	6.76–9.93	1.30–2.63	2.69–5.38	83.1–88.0	21.3–29.3	32.7–53.4
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)								
	p	0.146	0.891	0.063	0.146	0.562	0.297	0.718
	SEM	0.53	0.397	0.134	0.228	0.44	0.84	1.65
Reference hybrids	mean	69.3	7.76	2.39	3.58	86.3	24.2	41.3
	range	60.1–77.1	5.86–10.3	1.35–3.43	2.21–5.58	80.8–89.1	16.5–33.8	27.4–56.3
ILSI (2014)	mean	69.9	7.68	2.063	4.30	86.0	25.80	41.88
	range	48.8–82.0	3.14–15.20	<LOQ–6.755	0.66–13.20	74.3–92.9	9.90–47.39	20.29–67.80
	N	4316	3897	3873	4316	3897	4116	4116

Test + TSH: $N = 16$. The trait-specific herbicides (TSH) glufosinate and glyphosate were applied to the test + TSH entry.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Proximate levels shown as percent dry weight, except moisture which is shown as percent fresh weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.

Tabla 3. Composición de Calcio y Fosforo. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 (test) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Ca	P
Test	mean	2092	1939
	range	1400–2940	1360–2550
Control	mean	2078	2016
	range	1320–2950	1300–2570
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)			
	p	0.926	0.458
	SEM	251	188
Reference hybrids	mean	1922	1903
	range	962–4050	1270–2790
ILSI (2014)	mean	1902.87	1938.01
	range	582.00–5767.90	689.78–4385.20
	N	3650	3650

Test: $N = 16$.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
Calcium and phosphorus levels shown as milligrams per kilogram dry weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.

Tabla 4. Composición de Calcio y Fosforo. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratado con herbicida (test + TSH) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Ca	P
Test + TSH	mean	2054	1960
	range	1290–3570	1340–2500
Control	mean	2078	2016
	range	1320–2950	1300–2570
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)			
	p	0.879	0.583
	SEM	251	188
Reference hybrids	mean	1922	1903
	range	962–4050	1270–2790
ILSI (2014)	mean	1902.87	1938.01
	range	582.00–5767.90	689.78–4385.20
	N	3650	3650

Test + TSH: $N = 16$. The trait-specific herbicides (TSH) glufosinate and glyphosate were applied to the test + TSH entry.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
Calcium and phosphorus levels shown as milligrams per kilogram dry weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.

Tabla 5. Composición proximal en grano y almidón. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 (test) y maíz no transgénico (control).

TABLE 9 **Grain proximate and starch composition: Across-location comparison of Bt11 × MIR162 × MON 89034 × GA21 maize (test) and nontransgenic maize (control)**

Data source	Statistic	Moisture[a]	Protein	Fat	Ash	Carbohydrates	ADF	NDF	TDF	Starch
Test	mean	13.6	8.51	3.23	1.35	86.9	3.64	11.4	15.3	69.2
	range	11.3–15.5	7.44–9.99	2.85–3.75	1.01–1.67	85.8–88.4	3.14–4.19	10.2–12.5	13.6–16.8	65.4–72.9
Control	mean	13.8	8.92	3.36	1.34	86.4	3.58	11.0	14.8	69.6
	range	12.4–16.3	7.59–10.0	2.90–3.85	1.02–1.51	85.2–88.0	3.07–4.38	9.95–12.6	13.4–16.8	63.3–73.7
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)										
	p	–	***0.023***	0.158	0.948	***0.015***	0.607	0.078	0.148	0.620
	SEM	–	0.309	0.102	0.054	0.31	0.085	0.17	0.32	0.67
Reference hybrids	mean	12.8	9.71	3.46	1.36	85.5	2.85	8.68	11.6	70.7
	range	10.3–15.7	8.29–12.5	2.73–4.32	1.03–1.82	82.4–86.9	2.21–3.61	7.10–10.4	9.84–13.7	62.1–75.1
ILSI (2014)	mean	14.5	10.31	3.829	1.415	84.5	3.72	10.31	13.90	66.6
	range	5.1–40.5	5.72–17.26	1.363–7.830	0.616–6.282	77.4–89.7	1.41–11.34	4.28–22.64	8.73–35.31	26.5–83.7
	N	6616	5790	5790	6190	5765	5942	5941	3763	1931

Test: $N = 16$.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
Proximate and starch levels shown as percent dry weight, except moisture which is shown as percent fresh weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.
[a] Grain was dried in the field, or mechanically after harvest, so moisture levels were not subjected to analysis of variance (ANOVA).

Tabla 6. Composición proximal en grano y almidón. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratado con herbicida (test + TSH) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Moisture[a]	Protein	Fat	Ash	Carbohydrates	ADF	NDF	TDF	Starch
Test + TSH	mean	13.3	8.33	3.20	1.36	87.1	3.63	11.9	15.6	69.2
	range	11.7–15.0	7.32–9.59	2.76–3.80	1.07–1.60	85.4–88.7	3.25–4.13	10.7–12.7	13.9–17.5	63.6–72.6
Control	mean	13.8	8.92	3.36	1.34	86.4	3.58	11.0	14.8	69.6
	range	12.4–16.3	7.59–10.0	2.90–3.85	1.02–1.51	85.2–88.0	3.07–4.38	9.95–12.6	13.4–16.8	63.3–73.7
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)										
	p	–	***0.002***	0.069	0.808	***0.001***	0.681	***<0.001***	***0.047***	0.686
	SEM	–	0.309	0.102	0.054	0.31	0.085	0.17	0.32	0.67
Reference hybrids	mean	12.8	9.71	3.46	1.36	85.5	2.85	8.68	11.6	70.7
	range	10.3–15.7	8.29–12.5	2.73–4.32	1.03–1.82	82.4–86.9	2.21–3.61	7.10–10.4	9.84–13.7	62.1–75.1
ILSI (2014)	mean	14.5	10.31	3.829	1.415	84.5	3.72	10.31	13.90	66.6
	range	5.1–40.5	5.72–17.26	1.363–7.830	0.616–6.282	77.4–89.7	1.41–11.34	4.28–22.64	8.73–35.31	26.5–83.7
	N	6616	5790	5790	6190	5765	5942	5941	3763	1931

Test + TSH: $N = 16$. The trait-specific herbicides (TSH) glufosinate and glyphosate were applied to the test + TSH entry.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
Proximate and starch levels shown as percent dry weight, except moisture which is shown as percent fresh weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.
[a] Grain was dried in the field, or mechanically after harvest, so moisture levels were not subjected to analysis of variance (ANOVA).

Tabla 7. Composición de minerales en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 (test) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	P	K	Se[a]	Na[b]	Zn
Test	mean	40.3	2.59	20.8	1067	6.63	2944	3911	–	–	24.2
	range	34.7–47.8	2.00–3.06	17.9–25.6	925–1300	4.49–8.53	2280–3500	3400–4490	<LOQ–0.182	<LOQ	19.0–30.0
Control	mean	38.8	2.25	21.2	1094	6.52	3043	3851	–	–	25.0
	range	31.0–47.0	1.67–2.81	19.1–23.9	900–1280	4.23–8.23	2240–3420	3320–4220	<LOQ–0.174	<LOQ	19.5–33.1
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)											
	p	0.129	***<0.001***	0.425	0.318	0.668	0.187	0.407	–	–	0.135
	SEM	1.83	0.161	0.94	54	0.644	179	135	–	–	1.95
Reference hybrids	mean	40.7	2.08	22.2	1107	6.40	2886	3939	–	–	23.5
	range	30.9–52.8	1.64–2.94	15.7–30.3	816–1410	4.26–9.85	2390–3570	3160–4950	<LOQ–0.273	<LOQ	16.3–39.6
ILSI (2014)	mean	44.2	1.71	20.56	1217.0	6.45	3142.0	3690.6	0.28	24.94	22.8
	range	<LOQ–1010.0	<LOQ–21.20	9.51–191.00	594.0–1940.0	1.69–14.30	1300.0–5520.0	1810.0–6030.0	<LOQ–1.51	<LOQ–731.54	6.5–42.6
	N	5932	5650	5819	5823	5822	5938	5823	973	1110	5823

Test: $N = 16$.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$, except copper ($N = 43$). Four outlying copper values (L07/E14/R3, L07/E15/R2, L08/E17/R4, L08/E18/R1) were excluded due to sample contamination during analysis and were excluded.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Mineral levels shown as milligrams per kilogram (mg/kg) dry weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type. When some or all values were < LOQ, and substitution with the LOQ was not appropriate due to the number or distribution of substitutions required, calculation of the mean and analysis of variance (ANOVA) could not be performed and only the range is shown.
[a] Original units of parts per billion (ppb) reported by Covance Laboratories were converted to mg/kg. The LOQ for selenium was 0.0334–0.0358 mg/kg dry weight.
[b] The LOQ for sodium was 111–119 mg/kg dry weight.

Tabla 8. Composición de minerales en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratado con herbicida (test + TSH) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	P	K	Se[a]	Na[b]	Zn
Test + TSH	mean	40.4	2.65	20.8	1079	6.35	2950	4021	–	–	23.7
	range	34.4–47.7	1.97–3.13	16.9–25.1	956–1300	4.66–8.59	2400–3540	3690–4520	<LOQ–0.152	<LOQ	19.3–31.1
Control	mean	38.8	2.25	21.2	1094	6.52	3043	3851	–	–	25.0
	range	31.0–47.0	1.67–2.81	19.1–23.9	900–1280	4.23–8.23	2240–3420	3320–4220	<LOQ–0.174	<LOQ	19.5–33.1
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)											
	p	0.112	***<0.001***	0.463	0.562	0.537	0.216	***0.045***	–	–	***0.023***
	SEM	1.83	0.161	0.94	54	0.644	179	135	–	–	1.95
Reference hybrids	mean	40.7	2.08	22.2	1107	6.40	2886	3939	–	–	23.5
	range	30.9–52.8	1.64–2.94	15.7–30.3	816–1410	4.26–9.85	2390–3570	3160–4950	<LOQ–0.273	<LOQ	16.3–39.6
ILSI (2014)	mean	44.2	1.71	20.56	1217.0	6.45	3142.0	3690.6	0.28	24.94	22.8
	range	<LOQ–1010.0	<LOQ–21.20	9.51–191.00	594.0–1940.0	1.69–14.30	1300.0–5520.0	1810.0–6030.0	<LOQ–1.51	<LOQ–731.54	6.5–42.6
	N	5932	5650	5819	5823	5822	5938	5823	973	1110	5823

Test + TSH: $N = 16$. The trait-specific herbicides (TSH) glufosinate and glyphosate were applied to the test + TSH entry.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$, except copper ($N = 43$). Four outlying copper values (L07/E14/R3, L07/E15/R2, L08/E17/R4, L08/E18/R1) were excluded due to sample contamination during analysis and were excluded.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Mineral levels shown as milligrams per kilogram (mg/kg) dry weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type. When some or all values were < LOQ, and substitution with the LOQ was not appropriate due to the number or distribution of substitutions required, calculation of the mean and analysis of variance (ANOVA) could not be performed and only the range is shown.
[a] Original units of parts per billion (ppb) reported by Covance Laboratories were converted to mg/kg. The LOQ for selenium was 0.0334–0.0358 mg/kg dry weight.
[b] The LOQ for sodium was 111–119 mg/kg dry weight.

Tabla 9. Composición de vitaminas en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 (test) y maíz no transgénico (control).

Data Source	Statistic	Vitamin A β-carotene	Vitamin B_1 Thiamine	Vitamin B_2 Riboflavin	Vitamin B_3 Niacin	Vitamin B_6 Pyridoxine	Vitamin B_9 Folic Acid	Vitamin E[a] α-tocopherol
Test	mean	0.0552	0.314	0.242	2.33	0.513	0.0513	0.0112
	range	0.0329–0.0830	0.253–0.379	0.210–0.289	1.90–2.84	0.404–0.581	0.0317–0.0782	0.00865–0.0155
Control	mean	0.0680	0.285	0.246	2.14	0.548	0.0486	0.0122
	range	0.0384–0.0911	0.231–0.374	0.157–0.343	1.77–2.54	0.450–0.657	0.0372–0.0794	0.00926–0.0166
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)								
	p	***0.017***	***<0.001***	0.788	0.113	***0.006***	0.484	***0.017***
	SEM	0.00595	0.0172	0.0127	0.108	0.0253	0.00272	0.00130
Reference hybrids	mean	0.133	0.392	0.259	2.24	0.599	0.0402	0.0143
	range	0.0693–0.288	0.255–0.531	0.157–0.362	1.69–3.46	0.383–0.717	0.0232–0.0660	0.00769–0.0263
ILSI (2014)	mean	0.481	0.383	0.190	2.094	0.601	0.0575	0.0106
	range	<LOQ–4.990	<LOQ–4.000	<LOQ–0.735	<LOQ–4.694	<LOQ–1.214	<LOQ–0.3500	<LOQ–0.0687
	N	4373	4981	4061	4999	4998	5460	4480

Test: $N = 16$.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Vitamin levels shown as milligrams per 100 grams (mg/100 g) dry weight, except vitamin E which is shown as milligrams per gram (mg/g).
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.
[a] Original units of mg/100 g reported by Covance Laboratories were converted to mg/g.

Tabla 10. Composición de vitaminas en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratado con herbicida (test + TSH) y maíz no transgénico (control).

Data Source	Statistic	Vitamin A β-carotene	Vitamin B_1 Thiamine	Vitamin B_2 Riboflavin	Vitamin B_3 Niacin	Vitamin B_6 Pyridoxine	Vitamin B_9 Folic Acid	Vitamin E[a] α-tocopherol
Test + TSH	mean	0.0627	0.316	0.263	2.41	0.515	0.0479	0.0116
	range	0.0456–0.0930	0.254–0.372	0.170–0.371	1.90–3.05	0.402–0.578	0.0355–0.0766	0.00710–0.0167
Control	mean	0.0680	0.285	0.246	2.14	0.548	0.0486	0.0122
	range	0.0384–0.0911	0.231–0.374	0.157–0.343	1.77–2.54	0.450–0.657	0.0372–0.0794	0.00926–0.0166
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)								
	p	0.227	***<0.001***	0.225	***0.035***	***0.009***	0.843	0.150
	SEM	0.00595	0.0172	0.0127	0.108	0.0253	0.00272	0.00130
Reference hybrids	mean	0.133	0.392	0.259	2.24	0.599	0.0402	0.0143
	range	0.0693–0.288	0.255–0.531	0.157–0.362	1.69–3.46	0.383–0.717	0.0232–0.0660	0.00769–0.0263
ILSI (2014)	mean	0.481	0.383	0.190	2.094	0.601	0.0575	0.0106
	range	<LOQ–4.990	<LOQ–4.000	<LOQ–0.735	<LOQ–4.694	<LOQ–1.214	<LOQ–0.3500	<LOQ–0.0687
	N	4373	4981	4061	4999	4998	5460	4480

Test + TSH: $N = 16$. The trait-specific herbicides (TSH) glufosinate and glyphosate were applied to the test + TSH entry.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Vitamin levels shown as milligrams per 100 grams (mg/100 g) dry weight except vitamin E which is shown as milligrams per gram (mg/g).
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.
[a] Original units of mg/100 g reported by Covance Laboratories were converted to mg/g.

Tabla 11. Composición de aminoácidos en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 (test) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Cys	Val
Test	mean	5.33	3.04	3.81	14.7	7.54	3.45	6.17	1.97	4.09
	range	4.52–6.30	2.57–3.58	3.20–4.69	11.7–18.4	6.24–9.46	3.06–3.93	4.68–7.57	1.66–2.54	3.55–4.81
Control	mean	5.56	3.15	4.00	15.6	7.94	3.53	6.42	1.95	4.27
	range	4.71–6.24	2.70–3.57	3.34–4.70	12.2–18.4	6.58–9.38	3.15–3.87	5.05–7.30	1.69–2.13	3.72–4.71
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)										
	p	0.212	0.194	0.161	0.194	0.173	0.274	0.396	0.762	0.141
	SEM	0.183	0.101	0.140	0.70	0.324	0.089	0.273	0.064	0.136
Reference hybrids	mean	6.61	3.38	4.53	17.5	8.26	3.71	7.17	1.92	4.55
	range	5.59–8.20	2.96–4.29	3.98–5.92	14.5–22.8	6.73–10.5	3.01–4.71	6.22–9.50	1.47–2.29	4.05–5.89
ILSI (2014)	mean	6.82	3.68	4.97	19.70	9.19	3.88	7.89	2.14	4.83
	range	3.35–12.08	2.19–6.66	1.82–7.69	9.65–35.40	4.62–17.50	1.84–6.85	4.39–14.80	1.16– 5.14	2.66–8.55
	N	5918	5918	5918	5918	5918	5918	5918	5917	5918

Test: $N = 16$.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
Amino acid levels shown as milligrams per gram dry weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.

(continued)

Tabla 12. Composición de aminoácidos en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 (test) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	Trp
Test	mean	1.67	2.92	9.71	3.17	4.00	2.58	2.44	4.24	0.736
	range	1.36–1.91	2.33–3.60	7.67–12.3	2.48–4.03	3.29–4.94	2.16–2.84	2.19–2.74	3.62–4.92	0.659–0.829
Control	mean	1.76	3.08	10.4	3.23	4.25	2.65	2.60	4.37	0.778
	range	1.40–2.13	2.47–3.58	7.94–12.3	2.56–3.61	3.42–4.91	2.48–2.89	2.18–3.01	3.83–4.80	0.679–0.884
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)										
	p	0.191	0.174	0.181	0.630	0.186	0.198	***0.013***	0.212	***0.031***
	SEM	0.073	0.117	0.502	0.128	0.188	0.049	0.081	0.133	0.0219
Reference hybrids	mean	1.87	3.42	11.7	3.70	4.86	2.86	2.61	4.82	0.824
	range	1.30–2.35	3.02–4.37	9.38–15.5	3.08–4.72	4.19–6.66	2.31–3.62	2.20–3.36	4.12–6.41	0.713–0.982
ILSI (2014)	mean	2.10	3.68	13.03	3.54	5.30	2.94	2.87	4.65	0.712
	range	1.05–4.68	1.79–6.92	6.42–24.92	1.03–7.34	2.44–9.30	1.29–6.68	1.37–4.56	1.19–7.08	0.271–2.150
	N	5915	5918	5918	5918	5918	5909	5918	5918	5916

Test: $N = 16$.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
Amino acid levels shown as milligrams per gram dry weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.

Tabla 13. Composición de aminoácidos en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratado con herbicida (test + TSH) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Cys	Val
Test + TSH	mean	5.32	3.00	3.76	14.4	7.27	3.41	6.00	1.87	4.02
	range	4.81–6.24	2.72–3.40	3.33–4.42	12.1–17.6	5.97–8.84	3.13–3.78	5.10–7.32	1.72–2.11	3.62–4.72
Control	mean	5.56	3.15	4.00	15.6	7.94	3.53	6.42	1.95	4.27
	range	4.71–6.24	2.70–3.57	3.34–4.70	12.2–18.4	6.58–9.38	3.15–3.87	5.05–7.30	1.69–2.13	3.72–4.71
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)										
	p	0.200	0.102	0.082	0.100	***0.043***	0.105	0.172	0.072	0.058
	SEM	0.183	0.101	0.140	0.70	0.324	0.089	0.273	0.064	0.136
Reference hybrids	mean	6.61	3.38	4.53	17.5	8.26	3.71	7.17	1.92	4.55
	range	5.59–8.20	2.96–4.29	3.98–5.92	14.5–22.8	6.73–10.5	3.01–4.71	6.22–9.50	1.47–2.29	4.05–5.89
ILSI (2014)	mean	6.82	3.68	4.97	19.70	9.19	3.88	7.89	2.14	4.83
	range	3.35–12.08	2.19–6.66	1.82–7.69	9.65–35.40	4.62–17.50	1.84–6.85	4.39–14.80	1.16– 5.14	2.66–8.55
	N	5918	5918	5918	5918	5918	5918	5918	5917	5918

Test + TSH: $N = 16$. The trait-specific herbicides (TSH) glufosinate and glyphosate were applied to the test + TSH entry. *(continued)*
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
Amino acid levels shown as milligrams per gram dry weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.

Tabla 14. Composición de aminoácidos en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratado con herbicida (test) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	Trp
Test + TSH	mean	1.69	2.87	9.47	3.12	3.90	2.58	2.41	4.19	0.731
	range	1.38–2.00	2.50–3.34	7.83–11.9	2.80–3.54	3.24–4.83	2.22–2.87	2.10–2.84	3.73–4.61	0.672–0.829
Control	mean	1.76	3.08	10.4	3.23	4.25	2.65	2.60	4.37	0.778
	range	1.40–2.13	2.47–3.58	7.94–12.3	2.56–3.61	3.42–4.91	2.48–2.89	2.18–3.01	3.83–4.80	0.679–0.884
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)										
	p	0.304	0.095	0.084	0.363	0.078	0.194	***0.003***	0.104	***0.022***
	SEM	0.073	0.117	0.502	0.128	0.188	0.049	0.081	0.133	0.0219
Reference hybrids	mean	1.87	3.42	11.7	3.70	4.86	2.86	2.61	4.82	0.824
	range	1.30–2.35	3.02–4.37	9.38–15.5	3.08–4.72	4.19–6.66	2.31–3.62	2.20–3.36	4.12–6.41	0.713–0.982
ILSI (2014)	mean	2.10	3.68	13.03	3.54	5.30	2.94	2.87	4.65	0.712
	range	1.05–4.68	1.79–6.92	6.42–24.92	1.03–7.34	2.44–9.30	1.29–6.68	1.37–4.56	1.19–7.08	0.271–2.150
	N	5915	5918	5918	5918	5918	5909	5918	5918	5916

Test + TSH: $N = 16$. The trait-specific herbicides (TSH) glufosinate and glyphosate were applied to the test + TSH entry.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
Amino acid levels shown as milligrams per gram dry weight.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type.

Tabla 15. Composición de ácido fatico en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 (test) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	16:0 Palmitic	16:1 Palmitoleic	17:0 Heptadecanoic	18:0 Stearic	18:1 Oleic	18:2 Linoleic	18:3 Linolenic	20:0 Arachidic	20:1 Eicosenoic	22:0 Behenic
Test	mean	15.8	0.149	–	2.04	20.4	58.8	2.03	0.383	0.182	0.165
	range	15.0–16.4	0.122–0.176	<LOQ	1.81–2.37	19.6–21.5	57.4–60.6	1.95–2.10	0.352–0.444	0.173–0.192	0.144–0.182
Control	mean	15.7	0.150	–	2.02	20.9	58.5	2.01	0.376	0.183	0.161
	range	14.9–16.4	0.134–0.162	<LOQ	1.80–2.28	20.1–21.7	57.0–60.5	1.91–2.14	0.349–0.404	0.177–0.192	0.132–0.180
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)											
	p	0.661	0.823	–	0.342	***0.004***	***0.043***	0.228	0.110	0.636	0.413
	SEM	0.17	0.0066	–	0.087	0.27	0.43	0.014	0.0100	0.0017	0.0048
Reference hybrids	mean	14.7	0.122	–	1.92	22.7	58.0	1.69	0.407	0.274	0.173
	range	13.2–15.9	<LOQ–0.164	<LOQ–0.110	1.60–2.28	18.1–28.4	51.2–62.9	1.49–1.94	0.320–0.481	0.180–0.353	0.127–0.212
ILSI (2014)	mean	12.55	0.147	0.089	1.90	26.52	56.72	1.38	0.419	0.270	0.185
	range	6.81– 26.55	<LOQ–0.453	<LOQ–0.203	1.02– 3.83	17.40–42.81	34.27–67.68	0.55–2.33	0.267–0.993	<LOQ–1.952	<LOQ–0.417
	N	4682	2119	265	4682	4682	4682	4682	4344	4322	3858

Test: $N = 16$.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Fatty acids shown as percent of total fatty acids.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type. When some or all values were < LOQ, and substitution with the LOQ was not appropriate due to the number or distribution of substitutions required, calculation of the mean and analysis of variance (ANOVA) could not be performed and only the range is shown. Levels < LOQ were observed for all replicates at all locations for 8:0 caprylic, 10:0 capric, 12:0 lauric, 14:0 myristic acid, 14:1 myristoleic, 15:0 pentadecanoic, 15:1 pentadecenoic, 17:1 heptadecenoic, 18:3 gamma linolenic, 20:2 eicosadienoic, 20:3 eicosatrienoic, and 20:4 arachidonic fatty acids.

Tabla 16. Composición de ácido fatico en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratado con herbicida (test + TSH) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	16:0 Palmitic	16:1 Palmitoleic	17:0 Heptadecanoic	18:0 Stearic	18:1 Oleic	18:2 Linoleic	18:3 Linolenic	20:0 Arachidic	20:1 Eicosenoic	22:0 Behenic
Test + TSH	mean	15.9	0.145	–	2.05	20.6	58.6	2.04	0.384	0.183	0.166
	range	15.3–16.5	0.120–0.160	<LOQ	1.77–2.31	19.6–21.5	57.6–60.2	1.97–2.11	0.342–0.426	0.173–0.198	0.135–0.197
Control	mean	15.7	0.150	–	2.02	20.9	58.5	2.01	0.376	0.183	0.161
	range	14.9–16.4	0.134–0.162	<LOQ	1.80–2.28	20.1–21.7	57.0–60.5	1.91–2.14	0.349–0.404	0.177–0.192	0.132–0.180
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)											
	p	0.265	0.268	–	0.061	***0.022***	0.526	0.109	0.069	0.704	0.251
	SEM	0.17	0.0066	–	0.087	0.27	0.43	0.014	0.0100	0.0017	0.0048
Reference hybrids	mean	14.7	0.122	–	1.92	22.7	58.0	1.69	0.407	0.274	0.173
	range	13.2–15.9	<LOQ–0.164	<LOQ –0.110	1.60–2.28	18.1–28.4	51.2–62.9	1.49–1.94	0.320–0.481	0.180–0.353	0.127–0.212
ILSI (2014)	mean	12.55	0.147	0.089	1.90	26.52	56.72	1.38	0.419	0.270	0.185
	range	6.81– 26.55	<LOQ–0.453	<LOQ–0.203	1.02– 3.83	17.40–42.81	34.27–67.68	0.55–2.33	0.267–0.993	<LOQ–1.952	<LOQ–0.417
	N	4682	2119	265	4682	4682	4682	4682	4344	4322	3858

Test + TSH: $N = 16$. The trait-specific herbicides (TSH) glufosinate and glyphosate were applied to the test + TSH entry.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Fatty acids shown as percent of total fatty acids.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type. When some or all values were < LOQ, and substitution with the LOQ was not appropriate due to the number or distribution of substitutions required, calculation of the mean and analysis of variance (ANOVA) could not be performed and only the range is shown. Levels < LOQ were observed for all replicates at all locations for 8:0 caprylic, 14:0 myristic acid, 14:1 myristoleic, 15:0 pentadecanoic, 15:1 pentadecenoic, 17:1 heptadecenoic, 18:3 gamma linolenic, 20:2 eicosadienoic, 20:3 eicosatrienoic, and 20:4 arachidonic fatty acids. For 10:0 capric and 12:0 lauric, all but one value were < LOQ.

Tabla 17. Composición de metabolitos secundarios y anti-nutrientes en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 (test) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Ferulic acid (mg/kg)	*p*-Coumaric acid (mg/kg)	Inositol (ppm)	Phytic acid (%)	Trypsin inhibitor (TIU/mg)	Furfural[a] (mg/kg)	Raffinose (%)
Test	mean	3124	420	2104	0.878	3.85	–	0.163
	range	2830–3570	385–483	1510–2670	0.615–1.10	2.38–4.74	<LOQ	0.0968–0.205
Control	mean	2984	435	2295	0.900	3.72	–	0.148
	range	2650–3570	377–497	1490–2930	0.645–1.06	2.78–4.58	<LOQ	0.0945–0.197
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)								
	p	***0.023***	0.072	0.271	0.575	0.665	–	0.061
	SEM	79	11.1	150	0.0746	0.210	–	0.0189
Reference hybrids	mean	2182	218	2250	0.842	3.99	–	0.204
	range	1840–2490	117–331	1650–3660	0.606–1.21	2.72–5.40	<LOQ	0.0640–0.347
ILSI (2014)	mean	2254.93	224.2	1737.1	0.861	3.51	3.697	0.174
	range	291.93–4397.30	<LOQ–820.0	<LOQ–4750.0	<LOQ–1.570	<LOQ–8.42	<LOQ–6.340	<LOQ–0.443
	N	5378	5371	4003	5762	4089	14	4585

Test: $N = 16$.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Units for anti-nutrients are shown in column headings: milligrams per kilogram (mg/kg), parts per million (ppm), percent (%), trypsin inhibitor unit (TIU). All are expressed on a dry weight basis.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type. When some or all values were < LOQ, and substitution with the LOQ was not appropriate due to the number or distribution of substitutions required, calculation of the mean and analysis of variance (ANOVA) could not be performed and only the range is shown.
[a] The LOQ for furfural was 0.557–0.597 mg/kg DW.

Tabla 18. Composición de metabolitos secundarios y anti-nutrientes en el grano. A través de localidades comparando maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tratado con herbicida (test + TSH) y maíz no transgénico (control).

Data source	Statistic	Ferulic acid (mg/kg)	*p*-Coumaric acid (mg/kg)	Inositol (ppm)	Phytic acid (%)	Trypsin inhibitor (TIU/mg)	Furfural[a] (mg/kg)	Raffinose (%)
Test + TSH	mean	3108	424	2416	0.888	3.92	–	0.172
	range	2770–3500	395–468	1780–2940	0.611–1.16	2.27–5.19	<LOQ	0.124–0.248
Control	mean	2984	435	2295	0.900	3.72	–	0.148
	range	2650–3570	377–497	1490–2930	0.645–1.06	2.78–4.58	<LOQ	0.0945–0.197
ANOVA (*t*-test) entry effect and standard error of means (SEM)								
	p	***0.045***	0.205	0.474	0.761	0.508	–	***0.010***
	SEM	79	11.1	150	0.0746	0.210	–	0.0189
Reference hybrids	mean	2182	218	2250	0.842	3.99	–	0.204
	range	1840–2490	117–331	1650–3660	0.606–1.21	2.72–5.40	<LOQ	0.0640–0.347
ILSI (2014)	mean	2254.93	224.2	1737.1	0.861	3.51	3.697	0.174
	range	291.93–4397.30	<LOQ–820.0	<LOQ–4750.0	<LOQ–1.570	<LOQ–8.42	<LOQ–6.340	<LOQ–0.443
	N	5378	5371	4003	5762	4089	14	4585

Test + TSH: $N = 16$. The trait-specific herbicides (TSH) glufosinate and glyphosate were applied to the test + TSH entry.
Control: $N = 16$.
Reference hybrids: $N = 47$.
ILSI: N is the number of ILSI values used to calculate the mean and excludes values < LOQ.
Units for anti-nutrients are shown in column headings: milligrams per kilogram (mg/kg), parts per million (ppm), percent (%), trypsin inhibitor unit (TIU). All are expressed on a dry weight basis.
Results significantly different ($p < 0.05$) are shown in bold italic type. When some or all values were < LOQ, and substitution with the LOQ was not appropriate due to the number or distribution of substitutions required, calculation of the mean and analysis of variance (ANOVA) could not be performed and only the range is shown.
[a] The LOQ for furfural was 0.557–0.597 mg/kg DW.

Los resultados de los análisis de composición nutricional tanto para el forraje como para el grano del maíz conteniendo el evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, indican que los valores obtenidos son semejantes al respectivo híbrido isogénico no modificado y aunque en algunos casos se presentaron diferencias significativas, estas no fueron biológicamente significativa, ya que no fueron consistentes en todas las localidades, mostrando que se podrían tratar de efectos de la interacción con el medio ambiente.

Por lo anterior se puede decir que en términos generales no hubo afectación biológica ya que los valores de los diferentes analitos evaluados se encontraban dentro de los rangos reportados para los maíces, en la literatura especializada.

Probabilidad de ocurrencia

De acuerdo a los estudios realizados por el solicitante, es poco probable que el maíz en Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 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 que el maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 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 el maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional excepto por la característica nueva introducida, 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:

MAÍZ EVENTO Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21
¿Existe familiaridad basada en introducciones con historial de uso seguro?
SI. El evento conjunto y cada uno de sus parentales han sido aprobados para su uso en diferentes países.

¿Es la planta modificada genéticamente un producto de métodos genéticos clásicos?
Sí. El evento acumulado Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 fue obtenido cruzamiento convencional entre las tres líneas parentales, que si fueron modificadas genéticamente.

¿La planta modificada genéticamente, es fenotípicamente equivalente a un producto de un método clásico?
SI. La línea de eventos acumulados de maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21. Los estudios de características agronómicas y nutricionales mostraron que no había diferencias significativas entre el evento acumulado, con y sin aplicación de herbicida, con respecto a testigos convencionales. La gran diferencia se basa en la expresión de las proteínas transgénicas.

¿Pueden haber cruces con otras especies con variedades cultivadas del género *Zea* presentes?
SI. El maíz tiene flores femeninas y masculinas en estructuras separadas y el polen puede ser diseminado por el viento, así que dependiendo del patrón de vientos, la humedad y la temperatura, puede darse cruzamiento con otros materiales compatible. Entendiendo que en Colombia no hay parientes silvestres del maíz.

III. EFECTOS POTENCIALES EN EL AMBIENTE PREGUNTAS APROPIADAS PARA APLICACIONES ESPECÍFICAS PARA SER TOMADAS POR USUARIOS DE LA ESTRUCTURAPARA COMERCIALIZAR PLANTAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE

¿Hay cambios en la progenie obtenida por cruzamiento convencional?
No. No se producen cambios diferentes a los esperados de acuerdo con la herencia mendeliana.

¿Cuál es el modo de acción de las proteínas?
Los genes de la familia Cry son aislados de la bacteria *B. thuringiensis* (Bt). Esta es una bacteria que vive en el suelo y produce proteínas cristalinas que matan a algunos insectos de forma selectiva. Las diferentes cepas o subespecies de Bt producen diferentes variantes de la proteína que determinan el o los insectos objetivos.

Las proteínas Cry se solubilizan y forman cristales, en el estómago alcalino (pH 9-10) de las larvas de los insectos, una vez son ingeridos. Estos cristales se fijan en unos receptores muy específicos que se encuentran en el intestino medio del insecto susceptible. Cuando el cristal se fija en el intestino medio, le ocasiona una serie de poros que interfieren con el transporte de iones a través de la pared del intestino, pudiendo ocasionar la destrucción del epitelio de este y según la dosis consumida, la parálisis y/o la muerte del insecto. Hay que destacar que los receptores específicos no existen en mamíferos, por lo que no hay ninguna razón para pensar que las proteínas Cry, puedan causar algún problema en la salud humana.

El gen *pat*, que codifica para la enzima fosfinotricina acetiltransferasa (PAT), se deriva de la bacteria no patógena *Streptomyces viridochromogenes*. La enzima PAT inactiva a los herbicidas de la clase glufosinato de amonio, por introducción de un grupo acetilo en la molécula del herbicida, es decir, convierte la L-fosfinotricina, el principio activo de los herbicidas que contienen glufosinato de amonio, en una forma inactiva que no tiene ningún efecto herbicida en las plantas que lo expresan.

La proteína CP4 EPSPS, 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa, es una enzima derivada de *Agrobacterium* sp. Cepa CP4. El mecanismo de tolerancia al glifosato de estas plantas, se basa en el hecho de que el único objetivo fisiológico del glifosato es la proteína EPSPS, que es una enzima clave de la ruta del ácido shikimato de la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos, endógena de la planta.

Todas las plantas, bacteria y hongos contienen enzimas EPSPS, pero no están presentes en los humanos ni en otros mamíferos porque los mamíferos no sintetizan aminoácidos aromáticos.

En las plantas, la actividad de esta enzima es bloqueada por el glifosato, por lo cual la biosíntesis de aminoácidos aromáticos se interrumpe. Esta interrupción priva a la planta de estos aminoácidos esenciales provocándole la muerte. El gen *cp4 epsps* aislado de la Cepa CP4 de *Agrobacterium* codifica una proteína estructural y funcionalmente similar a la producida en planta pero con la ventaja que tiene baja afinidad con el glifosato. Esta característica permite que la proteína continué haciendo su función, aún en presencia de glifosato.

¿Tienen las proteínas mecanismos de acción igual o diferente?
El híbrido maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, posee un grupo de proteínas de la familia Cry, la proteína PAT y la proteína CP4 EPSPS.
En general, el mecanismo de acción de las proteínas Cry es igual entre ellas, aunque su acción difiere según el insecto objetivo, debido a la especificidad de los receptores. Sin embargo, el mecanismo de acción de estas proteínas difiere del mecanismo de acción de la CP4 EPSPS.

¿En qué parte de la planta se acumulan las proteínas transgénicas?
Las proteínas transgénicas del maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, se expresan en todos los tejidos de la planta, ya que tienen un promotor constitutivo.

¿Expresa el hibrido los niveles esperados de resistencia a insectos y tolerancia a herbicidas?
Si, las plantas de maíces provenientes del evento Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 presentan control al ataque de ciertos insectos del orden lepidóptero y presenta tolerancia a los herbicidas con los ingredientes activos glifosato y glufosinato de amonio.

¿Se esperan cambios en el consumo humano o animal?
No. El grano y el forraje provenientes del hibrido de maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, son nutricionalmente similares al grano y forraje del maíz convencional. Como se esperaba, no hay efectos no intencionales derivados de la expresión del evento conjunto.

IV. RECOMENDACION

Teniendo en cuenta:
1) Que el maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, tiene muy pocas posibilidades de convertirse en supermaleza o en maleza persistente.

2) Que el maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, ofrece alternativas de control para ciertos insectos lepidópteros. Igualmente presenta tolerancia a los herbicidas glufosinato de amonio y al glifosato, lo cual permite alternar las moléculas y poder hacer un mejor manejo y control de las malezas.

3) Que el maíz híbrido Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 y los alimentos para consumo animal derivados de él son tan seguros y nutritivos como las variedades comerciales.

4) Que los eventos individuales del evento conjunto Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21, se encuentran autorizados en el país para siembras controladas y para consumo humano y animal.

5) Que la calidad nutricional del híbrido Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 es equivalente a su contraparte no transgénica y a algunas variedades e híbridos comerciales.

6) Que los niveles expresados de las proteínas transgénicas son suficientes para mantener las características de resistencia a algunos lepidópteros, tolerancia al glufosinato de amonio y al glifosato.

7) Que la inocuidad de las proteínas expresadas ya ha sido evaluada en diferentes ensayos, sin que se haya evidenciado algún potencial tóxico o alergénico.

8) Que las proteínas transgénicas expresadas del híbrido Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 tienen muy pocas posibilidades de ser alergénicas y de causar efectos adversos en la salud humana y animal.

9) Que el híbrido Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 ya fue autorizado para consumo humano y animal en otros países, sin que se hayan detectado sucesos adversos ni para estos organismos, ni para el medio ambiente.

En virtud de lo anterior, se propone al CTNBio recomendar al ICA autorizar el uso del híbrido de Maíz Bt11 x MIR162 x MON89034 x GA21 como alimento o como materia prima para la elaboración de alimentos de consumo animal.