

RESOLUCIÓN No. 003052

05 JUL. 2013

Por la cual se autoriza el uso del maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

LA GERENTE GENERAL DEL INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, ICA

en uso de sus facultades legales y en especial por las conferidas por los Decretos 2141 de 1992, 1840 de 1994, 4525 de 2005, 4765 de 2008

CONSIDERANDO:

Que el gobierno nacional, en desarrollo de la Ley 740 de 2002 expidió el Decreto 4525 de 2005, y designó al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, a través del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA la competencia para la autorización de movimientos transfronterizos, el tránsito, la manipulación y la utilización de los Organismos Vivos Modificados, OVM con fines agrícolas pecuarios, pesqueros, plantaciones forestales comerciales y agroindustriales que puedan tener efectos adversos para la conservación y la utilización sostenible de la diversidad biológica.

Que el Decreto 4525 de 2005 estableció el marco regulatorio de los Organismos Vivos Modificados, OVM de acuerdo con los procedimientos señalados en la Ley 740 de 2002 y creó el Comité Técnico Nacional de Bioseguridad, CTNBio para OVM con fines agrícolas, pecuarios, pesqueros, plantaciones forestales comerciales y agroindustria cuya función es, entre otras, recomendar al Gerente General del ICA la expedición del acto administrativo para la autorización de actividades solicitadas con organismos vivos modificados.

Que la empresa Dow AgroSciences de Colombia S.A., en el marco de la legislación vigente, solicitó autorización al ICA para utilizar el maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Que el maíz DAS-40278-9 fue modificado con el gen *aad-1* que expresa la proteína AAD-1 (ariloxialcanoato dioxigenasa) aislada de la bacteria Gram negativa del suelo, *S. herbicidovorans*. Esta proteína es una enzima que degrada a los herbicidas 2,4- ácido diclorofenoxiacético (2,4-D) y ariloxifenoxipropionato (herbicidas sistémicos).

Que la *S. herbicidovorans* pertenece a un grupo de bacterias que están ampliamente distribuidas en el ambiente, lo cual hace que los animales y los humanos estén regularmente en contacto con ellas y sus componentes, sin que hasta el momento se haya documento ningún efecto adverso para ellos.

Que el evento se obtuvo por la transformación directa de células embriogénicas en suspensión de la línea Hi-II de maíz, mediante fibras de carburo de silicio conocidas como *whisker*, quienes actúan como pequeñas agujas que causan perforaciones a la célula vegetal, por donde ingresa el ADN exógeno. El fragmento del casete de expresión del gen *aad-1*, que se utilizó para la transformación, fue clonado dentro del plásmido pDAS1740. El tamaño del inserto fue estimado en 6236pb cuando se digirió el plásmido con la enzima de restricción *Fsp I*. De acuerdo al análisis, este evento sólo posee una única copia del inserto. La expresión de este transgen,

RESOLUCIÓN No. 003052
(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso del maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

está controlada mediante el promotor constitutivo *ZmUbi1* y el terminador *ZmPer5*, cuyas secuencias fueron aisladas desde plantas de maíz.

Que el evento de maíz DAS-40278-9 produce la proteína AAD-1, proveniente la única copia del transgen *aad-1*, cuya secuencia fue optimizada para su expresión en plantas.

Que el evento de maíz DAS-40278-9 se desarrolló por medio de transformación directa con el procedimiento conocido como "Whisker". Este es método que consiste en agitar una suspensión celular en presencia del DNA de interés y unas fibras muy delgadas y finas de carburo silícico, conocidas como *whiskers*, que por su acción abrasiva actúan como pequeñas agujas que crean poros transitorios en la membrana plasmática permitiendo la entrada del DNA de interés, al interior de la célula vegetal.

Que para la producción del evento DAS-40278-9, se puso en agitación una suspensión de células embriogénicas de la línea de maíz Hi-II, el fragmento del casete de expresión de la proteína AAD-1 (de 6236pb) y los *whisker*. Transcurrido el tiempo de agitación, el tejido fue puesto en un medio de crecimiento no selectivo, durante varios días. Luego se transfirió a un medio con Haloxifop-R, que es un bloqueador de la actividad de la enzima ACCasa (acetil coenzima A carboxilasa), la cual cataliza la biosíntesis de lípidos, para hacer una primera selección del tejido transformado y a partir de estos, generar las plantas transgénicas.

Que el plásmido usado para multiplicar el fragmento del constructo con el casete de expresión del gen *aad-1* fue el pDAS1740. La secuencia del gen fue aislada de la bacteria *H. sphingobium*, que es un habitante del suelo, y se modificó de tal manera que los codones que codifican los aminoácidos, tuvieran una expresión optimizada en la sistema vegetal.

Que la proteína expresada en el constructo es casi idéntica a la original (99,3% de similitud), debido a que el cambio de secuencia solo fue a nivel de nucleótidos y no de aminoácidos. Este nivel de similitud se logra aprovechando que el código genético es "degenerado", es decir que varias combinaciones de tres nucleótidos específicos (codón), codifican para un mismo aminoácido. La diferencia que se observa entre las dos proteínas, se da por la adición del aminoácido alanina en la posición dos de la proteína transgénica. Como resultado final de esta transformación se tiene un evento de maíz, el DAS-40278-9, que produce la enzima ariloxialkanoato dioxigenasa (AAD-1), la cual inactiva los herbicidas de la familia ariloxialkanoato, incluyendo fenoxi-auxinas y los inhibidores de ACCasa, como el 2,4-D.

Que la secuencia codificadora de la proteína AAD-1, está bajo el control del promotor *ZmUbi1* y el terminador UTR 3'-*ZmPer5*, cuyas secuencias fueron aisladas de genes presentes en plantas de maíz.

Que la estabilidad genética del inserto fue evaluada durante cinco generaciones mediante análisis de *Southern blot*, confirmándose la presencia y estabilidad del inserto durante el proceso de segregación. La estabilidad fenotípica o expresión de la proteína AAD-1, fue evaluada mediante ensayos de ELISA en tejido provenientes de plantas sembradas en campo de Estados Unidos y Canadá y la aplicación de herbicidas 2,4-D y/o quizalofop. Igualmente se

RESOLUCIÓN No. 003052

(05 JUL 2013)
Por la cual se autoriza el uso del maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

utilizó la prueba de diagnóstico rápido de proteínas, con tiras de flujo lateral, usando un kit específico para la proteína ADD-1 (American Bionostica, Cat#: 701K100).

Que los resultados de los análisis mostraron que el patrón de expresión de esta característica corresponde al presentado cuando sólo hay una copia activa del gen. Este hecho fue corroborado con los resultados del *Southern blot*. Con el que se evidenció que sólo había una copia intacta del gen *aad-1*.

Que el maíz DAS-40278-9 es sustancialmente equivalentes a otros maíces. Los estudios de características agronómicas y nutricionales mostraron que no había diferencias significativas entre este evento, con y sin aplicación de herbicida, con respecto al testigo convencional. La única diferencia entre este y otros maíces convencionales es la tolerancia a aplicaciones de herbicidas como el 2,4-D (2,4- ácido diclorofenoxiacético) y los del grupo ariloxifenoxipropionato, debido a la expresión de la proteína ADD-1.

Que el maíz DAS-40278 produce la proteína ADD-1 codificada por el gen *add-1* (Herman *et al.*, 2011). El gen *add-1* fue aislado de *S. herbicidovorans*, la cual es una bacteria gram-negativa que se encuentra naturalmente en el suelo. Las bacterias *S. herbicidovorans* no han sido asociadas a ninguna enfermedad en humanos, animales o plantas.

Que para la evaluación de seguridad en cuanto a la salud humana y animal, y el efecto sobre organismos no blancos de la proteína ADD-1, se realizó un estudio de alimentación de pollos de engorde, con dietas a base del evento DAS-40278. Los estudios de alimentación de pollos de engorde han sido considerados como metodología válida para evaluar la inocuidad de una nueva proteína presente en algún alimento.

Que se adelantó un estudio de toxicidad en ratones de acuerdo a los parámetros establecidos por la OECD. En este estudio, se le suministraron, dosis agudas de hasta 2000mg de proteína ADD-1 por kilogramo de peso corporal, a cada uno de los ratones del ensayo. Así mismo se hizo un ensayo de suministro crónico de esta proteína, durante 28 días. A los ratones de seis semanas de edad, de acuerdo al grupo de evaluación, se les suministró dietas suplementadas con 0, 0.45, 4.52, o 45.23mg de la proteína AAD-1 por kg corporal por día (mg/kg/día). Al grupo control se le suministraron, en la dieta, 45.23mg de albúmina de suero bovino/kg de peso corporal/día. Los parámetros evaluados fueron: supervivencia, signos clínicos, consumo de alimento, micro y macro patología, patología clínica, niveles de hematocritos, concentración de hemoglobina, recuento de glóbulos rojos, leucocitos, plaquetas y peso de órganos. Algunos de ellos fueron valorados a nivel de necropsia. Los resultados de estos análisis mostraron que en general, no había diferencias significativas en la salud y crecimiento de los pollos que fueron alimentados con dietas a base de DAS-40278. Resultados obtenidos en el ensayo con ratones mostró que la proteína ADD-1 no es tóxica para estos animales, aun cuando se usaron dosis elevadas (2000 mg/kg de peso corporal). Tampoco se observaron efectos adversos, cuando ellos fueron expuestos a dietas que contenían dosis de hasta 45,23 mg/kg de peso corporal/día de la proteína AAD-1, durante 29 días consecutivos; ni diferencias significativas en los parámetros que fueron evaluados, entre los ratones expuestos a esta proteína y los sometidos al tratamiento control. En resumen y de acuerdo a estas evidencias, se puede inferir que el

RESOLUCIÓN No. 003052

(05 JUL 2013)

Por la cual se autoriza el uso del maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

maíz DAS-40278 no representa ningún indicio de afectación para la salud de animales no blanco.

Que con mira a establecer si la proteína ADD-1, introducida en el maíz DAS-40278, podría comportarse como un ente alergénico, se realizó una comparación bioinformática de la secuencia de dicha proteína en las bases de datos especializadas en el tema (*FARRP Allergen Database; Version 10. Food Allergy Research and Resource Program. <http://www.allergenonline.org/>*). Los resultados de este estudio demostraron que la proteína ADD-1 no tiene ninguna similitud significativa con las secuencias que reposan en estas bases de datos. Igualmente se evaluó si esta proteína tenía alguna correspondencia con proteínas conocidas por algún efecto tóxico. Para ello se hizo un análisis comparativo *in silico* de su secuencia, en varias bases de datos como son: SWISS-PROT (www.expasy.org/sprot/), PIR (<http://pir.georgetown.edu/>), PRF y PDB, usando el programa BLASTp. Ninguna de las proteínas con que hubo alineamiento ha sido determinada o asociada con alergenicidad o toxicidad.

Que también se midió el nivel de la proteína ADD-1 en varios tejidos de la planta de maíz DAS-40278 y en diferentes edades. Para llevar a cabo este análisis, las plantas fueron cultivadas bajo condiciones de campo en cinco sitios de Estados Unidos y uno en Canadá. Como plantas controles se usaron muestras de tejidos de las plantas no transgénicas cultivadas en las mismas condiciones y durante la misma época. Los resultados mostraron que toda la planta expresó la proteína ADD-1. La mayor concentración se dio en el polen (en un rango de 37.5-210 ng/mg de peso seco), seguido por las hojas del estado fisiológico V2-V4 (rango de 4.07-29.9 ng/mg de peso seco). Donde menos expresión se presentó fue a nivel de raíces (0.42-7.62). El contenido promedio de la proteína DAA-1 en grano fue de 4,81 ng/mg de peso seco, y su rango estuvo entre 1.7 y 9.10.

Que de acuerdo a los niveles o contenidos de esta proteína, hallados en plantas de maíz DAS-40278-9, se puede considerar que es poco probable que ellas sean o se conviertan en entes alergénicos. Así mismo, los resultados de los análisis de digestión *in vitro*, demostraron que la proteína ADD-1 es rápidamente digerida después de 30 segundos. Bajo condiciones de fluido gástrico simulado (0,32% de pepsina, pH 1,2; 37 °C), esta proteína, se reduce a niveles no detectables, mediante análisis de *Western blot* y SDS-PAGE.

Que el estudio bioinformático en bases de datos especializadas descartó que la secuencia de aminoácidos de esta proteína tenga alguna homología significativa con las de otras proteínas, cuyo efecto alergénico sobre mamíferos ya es conocido. Iguales resultados fueron obtenidos cuando se evaluó la posibilidad que esta enzima presentara epítopes que causaran reacciones alergénicas. Lo anterior disminuye enormemente la posibilidad de que potencialmente, la proteína ADD-1 sea o se convierta en un agente alergénico o tóxico.

Que el maíz DAS-40278 es un OVM al cual se le introdujo el gen *add-1* que expresa la Proteína ADD-1. Para corroborar que la introducción y expresión de este gen en el evento DAS-40278, no cambio las propiedades nutritivas de este maíz o lo que es igual, que es nutricionalmente equivalente a su contra parte no transgénica, se realizaron varios análisis composicionales y un estudio de alimentación animal.

RESOLUCIÓN No.

(0-5 JUL. 2013 903052

Por la cual se autoriza el uso del maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Que el maíz evento DAS-40278-9, tiene aprobación para consumo en Australia, Canadá, Estados Unidos, México, Nueva Zelanda, Sur África y Taiwán.

Que teniendo en cuenta lo anterior, en la vigésima cuarta sesión del Comité Técnico Nacional de Bioseguridad CTNBio, realizada el 18 de abril de 2013, del cual hacen parte los Ministerios de Ambiente y Desarrollo Sostenible; de Salud y Protección Social; de Agricultura y Desarrollo Rural; Colciencias y el ICA, se presentaron los resultados de la "Evaluación de riesgos potenciales en maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la elaboración de alimentos para animales domésticos" y por consenso concluyó que se debe recomendar al ICA autorizar el uso del maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la elaboración de alimentos para animales domésticos.

Que en virtud de lo anterior:

RESUELVE:

ARTÍCULO 1.- Autorizar el uso del maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la elaboración de alimentos para animales domésticos presentado por la empresa Dow AgroSciences de Colombia S.A., NIT 800.087.795-2, cuyo representante es el señor José Cooz Sánchez.

ARTÍCULO 2.- Por razones justificadas de bioseguridad, cuando el ICA lo estime necesario podrá revocar la presente resolución sin consentimiento previo y sin derecho a indemnización alguna.

ARTÍCULO 3.- Las empresas que utilicen maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la elaboración de alimentos para animales domésticos quedan obligadas a cumplir las disposiciones que trata el Decreto 4525 de 2005 y demás normas vigentes sobre la materia.

ARTÍCULO 4.- Las empresas que utilicen maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la elaboración de alimentos para animales domésticos deberán cumplir además las siguientes obligaciones:

1. El maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) de que trata la presente resolución no podrá ser destinado como material de semilla para siembra.
2. Permitir al ICA la verificación, supervisión, control y toma de muestras necesarias para el cumplimiento de su función.
3. Informar oportunamente al ICA el conocimiento de un riesgo o daño actual o inminente en materia de bioseguridad
4. Aplicar oportuna y eficazmente las medidas de mitigación necesarias para un caso de emergencia.
5. Cumplir con las demás normas vigentes en materia de productos agropecuarios.

RESOLUCIÓN No. 003052

(05 JUL. 2013)
Por la cual se autoriza el uso del maíz DAS-40278 (DAS-40278-9) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

ARTÍCULO 5.- Las infracciones a la presente resolución serán sancionadas administrativamente por el ICA, de conformidad con el Decreto 1840 de 1994 y el Decreto 4525 de 2005 o las normas que los modifiquen o sustituyan, sin perjuicio de las demás atribuciones del ICA relativas a la bioseguridad.

ARTÍCULO 6.- La presente resolución será publicada de acuerdo con lo estipulado en el artículo 37 del Decreto 4525 de 2005, en la página web del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA: www.ica.gov.co.

ARTÍCULO 7.- Notifíquese el presente acto administrativo de acuerdo con lo consagrado en los artículos 67 a 69 del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo (Ley 1437 de 2011).

ARTÍCULO 8.- Contra la presente Resolución procede el recurso de reposición, el cual de acuerdo con lo contenido en el artículo 76 del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo (Ley 1437 de 2011), deberá interponerse dentro de los diez (10) días hábiles siguientes a su notificación.

ARTÍCULO 9.- La presente Resolución rige a partir de la fecha de su expedición

COMUNÍQUESE Y CÚMPLASE.

Dada en Bogotá, a

05 JUL. 2013


TERESITA BELTRAN OSPINA
Gerente General

Aprobado por: ALD
Elaborado por: I A M R
Revisión Jurídica
VoBo: Jefe Oficina Jurídica

