

RESUMEN SOLICITUD
AUTORIZACIÓN DE USO MAÍZ 3272 x BT11 x MIR162 x GA21 CONSUMO ANIMAL
(como sub-combinación del evento previamente autorizado 3272 x Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21)

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Nombre del solicitante SYNGENTA S.A.	2. Nombre del contacto Catalina Santana
3. Dirección del solicitante Calle 116 # 7-15, Oficina 601B Edificio CUSEZAR Bogotá D.C. Teléfono: (601) 6538777	4. Dirección del contacto Calle 116 # 7-15, Oficina 601B Edificio CUSEZAR Bogotá D.C. Teléfono: (601) 6538777
5. Nombre del producto (Identificador Único y otros nombres) Identificador OECD: SYN-E3272-5 x SYN-BTØ11-1 x SYN-IR162-4 x MON-ØØØ21-9 Otros Nombres: 3272 x BT11 x MIR162 x GA21	
6. Objetivo de la solicitud Autorización de uso del maíz 3272 x BT11 x MIR162 x GA21 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
7. Aprobaciones y usos en otros países El evento 3272 x BT11 x MIR162 x GA21 está desregulado en Estados Unidos y ha sido solicitado para autorización de uso a los organismos reguladores en varios países (Canadá, Japón, Singapur y Taiwán) quedando en espera el concepto respectivo de cada País.	
8. Algún otro uso aprobado en Colombia El apilado superior 3272 x Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA2, así como cada evento individual, tienen aprobación de uso en el país, por parte del ICA, como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL ORGANISMO VIVO MODIFICADO - OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores:

Organismo Familia: Poaceae
Género: Zea
Especie: *Z. mays* L.
Subespecie: *Zea mays ssp. Mays* L
Nombre común: Maíz

2. Descripción de la modificación genética

Las plantas de maíz provenientes del evento 3272 x BT11 x MIR162 x GA21 presentan tolerancia al ataque de un rango de insectos del orden Lepidóptera y presenta tolerancia a los herbicidas con los i.a. glifosato y glufosinato de amonio.

Evento 3272

Gen amy797E: El gen amy797E, es un gen quimérico derivado de las secuencias de 3 genes de alfaamilasa, originados de tres organismos hipertermofílicos del orden archaea Thermococcales. Este gen produce la proteína termoestable alfa-amilasa AMY797E, que es eficiente en la hidrólisis del almidón bajo altas temperaturas usadas en el proceso del maíz.

Gen pmi: Codifica la enzima fosfomanosa isomerasa (PMI) de *E. coli* (cepa K-12), que permite que las células vegetales portadoras del gen pmi utilicen manosa como fuente de carbono. Este gen actúa como marcador de selección durante el proceso de obtención de plantas genéticamente modificadas.

Evento Bt11

Gen cry1Ab: El producto del gen cry1Ab es una forma truncada de una proteína δ -endotoxina. La proteína Cry1Ab es cortada proteolíticamente en el intestino alcalino de los insectos Lepidópteros resultando en una forma insecticida activa. La proteína insecticida activa interactúa con una molécula receptora presente solamente en las células del epitelio del intestino medio de los insectos susceptibles, provocando poros en las membranas de las células. Como resultado, el balance osmótico celular es perturbado, las células se hinchan y sufren lisis. Las larvas de los insectos susceptibles cesan de comer y mueren.

Gen pat: El gen pat codifica para la enzima fosfinotricina-N-acetil transferasa (PAT), aislado del microorganismo del suelo *Streptomyces viridochromogenes* cepa Tu494 (Strauch et al., 1988). La enzima PAT ha sido usada como un marcador de selección permitiendo la identificación de células vegetales transformadas así como la fuente de tolerancia al i.a. glufosinato de amonio (o fosfinotricina), ingrediente activo de herbicidas como Basta, Liberty o Finale. El glufosinato de amonio actúa inhibiendo la enzima vegetal glutamina sintasa, una proteína encargada de detoxificar el amonio, mediante su incorporación al aminoácido glutamina. La inhibición de esta enzima conduce a la acumulación de amonio en los tejidos vegetales y causa la muerte de los mismos. La enzima PAT cataliza la acetilación del i.a. glufosinato de amonio, convirtiéndolo en un compuesto inactivo, detoxificando los tejidos



vegetales del mismo.

Evento MIR162

Gen Vip3Aa20: Codifica para la proteína vegetativa insecticida Vip3Aa20, aislado de *Bacillus thuringiensis*, cepa AB88, de 89kD de peso, que muestra actividad contra ciertos insectos del orden Lepidóptera. Las proteínas Vip3Aa comparten algunos pasos en el modo de acción con las δ -endotoxinas del Cry1Ab, sin embargo, utilizan objetivos moleculares diferentes y forman canales de iones diferentes comparados con el gen Cry1Ab.

Gen pmi

Codifica la enzima fosfomanosa isomerasa (PMI) de *E. coli* (cepa K-12), que permite que las células vegetales portadoras del gen pmi utilicen manosa como fuente de carbono. Este gen actúa como marcador de selección durante el proceso de obtención de plantas genéticamente modificadas.

Evento GA21

Gen mepsps: El gen mepsps codifica para una enzima 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa doble mutada (mEPSPS), aislada del maíz (*Zea mays* L.). La 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) nativa es una enzima clave en la ruta del ácido shikímico para la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano en plantas y microorganismos (Steinrucken y Amrhein, 1980). Las plantas de maíz transformadas con el gen mepsps, como expresión en el maíz genéticamente modificado del Evento GA21, presenta tolerancia al i.a. glifosato (Spencer et al., 1998; Lebrun et al., 2003). El i.a. glifosato se une e inactiva específicamente a la EPSPS, interrumpiendo la síntesis de aminoácidos aromáticos y causando la muerte de la planta.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Método usado para transformar la planta

La línea de este maíz híbrido 3272 x BT11 x MIR162 x GA21 se logró por cruzamiento convencional de líneas portadoras de los eventos 3272, Bt11, MIR162 y GA21.

Los métodos de transformación utilizados en los eventos individuales fueron:

Evento 3272. La transformación del maíz de Syngenta Evento 3272 que expresa la proteína AMY797E, fue obtenida usando embriones inmaduros de maíz derivados de una línea de maíz de Syngenta mediada por transformación de *Agrobacterium*, (Negroto et al, 2000; Hoekema, et al, 1983; Ooms et al, 1982).

Evento Bt11. El maíz Bt11 fue desarrollado a través de transferencia directa de la construcción genética a protoplastos de línea H8540 y regeneración en medio selectivo. Individuos de la línea portadora del evento seleccionado fueron cruzados y retrocruzados con líneas élite de maíz corporativas para asegurar su presencia en las líneas élite.

Evento MIR162. El maíz MIR162 fue producido por medio la transformación genética vía *Agrobacterium tumefaciens* (Negrotto et al., 2000; Hoekema et al., 1983), usando embriones inmaduros de *Zea mays*, línea NP2500xNP2499. Usando este método, elementos genéticos dentro de los extremos izquierdo y derecho del T-DNA del plásmido de transformación pNOV1300 son eficientemente transferidos e integrados dentro del genoma de la célula de la planta, mientras que los elementos externos a estos extremos generalmente no son transferidos.

Evento GA21. La línea de maíz GA21 (*Zea mays* L.) se desarrolló por medio de transformación genética con el procedimiento de aceleración de partículas (biolística, bajo la patente internacional PCT/US98/06640 (Spencer et al., 1998), donde el ADN se precipita en partículas microscópicas de oro que son luego puestas sobre un macroportador y aceleradas a alta velocidad hacia las células vegetales objetivo en donde el ADN es depositado e incorporado al cromosoma.

2. Diferencias del evento y Cultivar convencional

Componentes nutricionales claves en forraje y grano del híbrido de maíz 3272 x BT11 x MIR162 x GA21 fueron medidos y comparados con aquellos del maíz no transgénico.

El maíz 3272 x Bt11 x MIR162 x GA21 tratado con los herbicidas de características específicas glufosinato y glifosato (prueba + TSH), el correspondiente maíz de control no transgénico, casi isogénico (control), y tres de los seis híbridos de referencia no transgénicos se cultivaron en cada una de las once ubicaciones de los Estados Unidos durante la temporada de cultivo de 2019. Tres de los seis híbridos de referencia se cultivaron en cada ubicación y todas las entradas se cultivaron en un diseño de bloques completos al azar con cuatro replicados por entrada. Se recolectaron y analizaron muestras de forrajes y granos en busca de nutrientes y antinutrientes clave para alimentos y piensos.

Se analizó el forraje en busca de proximales y minerales (calcio y fósforo); Se analizó el grano en busca de proximales, almidón, minerales, vitaminas, aminoácidos, ácidos grasos, metabolitos secundarios y antinutrientes. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para probar los efectos de entrada tanto en entre las ubicaciones como dentro de cada ubicación. Se realizaron comparaciones estadísticas entre la prueba + TSH y el control. Además, los niveles medios de los componentes se compararon con el rango (mínimo a máximo) de valores para los seis híbridos de referencia no transgénicos y con los rangos para el maíz convencional publicados en la Base de Datos de Composición de Cultivos del Instituto de Sistemas de Agricultura y Alimentos (AFSI).

En la comparación entre ubicaciones entre el maíz de prueba + TSH y el control, los niveles medios de todos los componentes no difirieron, con la excepción de la fibra detergente ácida (ADF). El nivel medio de ADF fue estadísticamente significativamente más bajo en la prueba + TSH que en el control. Sin embargo, los niveles medios de todos los componentes del forraje en la prueba + TSH cayeron dentro de los rangos de valores para los híbridos de referencia.

De los 57 componentes cuantificables en el grano que se compararon estadísticamente, los niveles medios de 32 componentes en la prueba + TSH no fueron significativamente diferentes de los niveles en el control. Todas las diferencias observadas en los niveles de los componentes entre la prueba + TSH y el control fueron de una magnitud menor al 12% y

estuvieron dentro de los rangos del híbrido de referencia, excepto para el β -caroteno. El nivel medio de β -caroteno en el maíz de prueba + TSH fue de manera significativa estadísticamente más bajo que en el maíz de control y cayó por debajo del límite inferior del rango híbrido de referencia. Sin embargo, los niveles medios todavía estaban dentro del rango general de valores reportados en la literatura científica. Todos los niveles medios de los componentes cuantificables del grano en el maíz de prueba + TSH, incluido el β -caroteno, estaban dentro de los rangos de niveles publicados en la base de datos del AFSI.

La mayoría de los componentes de forrajes y granos en la prueba + TSH no difirieron del control. Cuando se produjeron diferencias, los niveles medios en la prueba + TSH estaban dentro de los rangos considerados normales para el maíz convencional.

Por lo tanto, la conclusión es que la composición de nutrientes del forraje y el grano del maíz 3272 $\times$ Bt11 $\times$ MIR162 $\times$ GA21 no es materialmente diferente de la del maíz de control no transgénico, casi isogénico o de la del maíz convencional.

3. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto

Análisis moleculares indican que el inserto se ha integrado de forma estable en el genoma de la planta de cada evento individual (3272 $\times$ Bt11, MIR162 y GA21) que se utilizó para la producción del híbrido transgénico 3272 $\times$ Bt11 $\times$ MIR162 $\times$ GA21. Dichos estudios y sus resultados se encuentran en la información de los eventos individuales, presentadas oportunamente