

RESUMEN SOLICITUD

AUTORIZACIÓN DE USO MAÍZ DP202216 x NK603 x DAS40278 COMO ALIMENTO DIRECTO O MATERIA PRIMA PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS DE CONSUMO ANIMAL.

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Nombre del solicitante Corteva Agriscience de Colombia S.A.S.	2. Nombre del contacto Claudia Peña
3. Dirección del solicitante Calle 113 No 7-21 Torre A Piso 14, Ofc. 1401 Teléfono: +57 601 2595900	4. Dirección del contacto Calle 113 No 7-21 Torre A Piso 14, Ofc. 1401 Teléfono: +57 601 2595900
5. Nombre del producto (Identificador Único y otros nombres) Identificador OECD: DP-202216-6 x MON-00603-6 x DAS40278-9 Otros Nombres: DP202216 x NK603 x DAS40278	
6. Objetivo de la solicitud Autorización de uso del maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
7. Aprobaciones y usos en otros países El evento DP202216 x NK603 x DAS40278, según información suministrada por el solicitante, está aprobado en Australia /Nueva Zelanda para consumo humano y animal. Además, se ha solicitado su autorización de uso a los organismos reguladores en Argentina, Japón y Unión Europea quedando en espera el concepto respectivo de cada País.	
8. Algún otro uso aprobado en Colombia El evento DP202216 x NK603 x DAS40278 no tiene aprobación de uso en el país. Sin embargo A nivel individual: -. El maíz DP202216 está autorizado para: Consumo humano: Resolución INVIMA No 2021012391 de abril de 2021. Consumo animal: Resolución ICA No 082359 del 29 de diciembre de 2020. -. El maíz NK603 está autorizado para: Consumo humano: Acta 02 del 29 de marzo de 2004 INVIMA Consumo animal: Resolución ICA No 003744 del 15 de diciembre de 2006.	

- El maíz **DAS40278-9** está autorizado para:

Consumo humano: Resolución INVIMA No 2019040915 del 17 de septiembre de 2019

Consumo animal: Resolución ICA No 003052 del 05 de julio de 2013.

La subcombinación **NK603 x DAS40278** 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. Resolución ICA No 003044 del 24 de septiembre de 2014.

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL ORGANISMO VIVO MODIFICADO - OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores:

Familia: Poaceae

Género: Zea

Especie: *Zea mays* L.

Subespecie: *Zea mays* ssp. *mays* L.

Nombre común: Maíz

2. Descripción de la modificación genética

El maíz **DP202216 x NK603 x DAS40278** es un evento apilado que presenta las características de potencial de rendimiento de grano mejorado, tolerancia a los herbicidas con ingrediente activo glufosinato de amonio, glifosato, 2,4-D y ariloxifenoxipropionatos (FOPS).

El maíz **DP202216** se desarrolló mediante la inserción del gen *zmm28* que se aisló del maíz y el gen optimizado de maíz de fosfinotricina acetiltransferasa (*mo-pat*). El casete del gen *zmm28* en el maíz DP202216 incrementa y extiende la expresión del gen *zmm28* en relación con la expresión del gen nativo *zmm28*. Tanto los genes *zmm28* introducidos como los nativos codifican la proteína ZMM28, un factor de transcripción de la caja MADS. La expresión incrementada y extendida de la proteína ZMM28 da como resultado plantas con potencial de rendimiento de grano mejorado. La expresión de la proteína PAT Confiere la tolerancia al ingrediente activo herbicida glufosinato.

El maíz **NK603** se desarrolló insertando dos copias del gen 5- Enolpyruvylshikimate-3-fosfato sintasa (*cp4 epsps*) de *Agrobacterium* sp. cepa CP4. La expresión de la proteína CP4 EPSPS confiere tolerancia al herbicida glifosato.

El maíz **DAS40278** se desarrolló insertando una versión optimizada para plantas del gen dioxigenasa de ariloxialcanoato (*add-1*) de *Sphingobium herbicidovorans*. La expresión de la proteína AAD-1 confiere tolerancia al herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y los herbicidas ariloxifenoxipropionatos (FOPs), tales como quizalofop, haloxifop.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Método usado para transformar la planta

El maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 se produjo mediante métodos de mejoramiento por cruzamiento convencionales que combinaban los eventos de maíz DP-202216-6 (DP202216) x MON-00603-6 (NK603) x DAS40278-9 (DAS40278).

Los métodos de transformación utilizados en los eventos individuales fueron:

Evento DP202216

Resultado de la transformación mediada por *Agrobacterium* con el plásmido PHP40099. La región del ADN de transferencia (T-ADN) del plásmido contiene dos casetes de genes, el gen *zmm28* y el gen *mo-pat*.

Gen *zmm28*: Codifica la proteína ZMM28, la expresión aumentada y extendida de la proteína da como resultado un mayor potencial de rendimiento de grano a través de un mayor vigor de la planta, un aumento de la capacidad fotosintética y una utilización mejorada de los nutrientes.

Gen *mo-pat*: La expresión está controlada por la región promotora del gen *ubiZM*, incluida la región 5' no traducida (UTR) y el intrón. El terminador del gen *mo-pat* es una segunda copia del terminador *pinII*. El gen expresa la enzima fosfinotricina acetiltransferasa (PAT).

Evento NK603

Se obtuvo por bombardeo con microproyectiles con el fragmento purificado PV-ZMGT32L creado por digestión de restricción *Mlu* I del plásmido PV-ZMGT32. El fragmento insertado contiene dos casetes de genes adyacentes cada uno con una sola copia del gen 5-enolpiruvilshikimato -3-fosfato sintasa (*cp4 epsps*) derivado de *Agrobacterium* sp. cepa CP4. Cada gen *cp4 epsps* se fusiona con una secuencia de ADN (*ctp2*) que codifica el péptido de tránsito del cloroplasto (*ctp2*) basado en secuencias derivadas de *Arabidopsis thaliana* EPSPS. CTP2 dirige la proteína CP4 EPSPS a su ubicación subcelular en el cloroplasto. En cada casete la expresión del *cp4 epsps* termina en la región 3' no traducida del gen de la nopalina sintasa (NOS 3') de *Agrobacterium tumefaciens*. La expresión de la proteína CP4 EPSPS confiere la tolerancia al herbicida glifosato.

Evento DAS40278

Se obtuvo por transformación mediada por whiskers con el fragmento *Fsp* I purificado del plásmido Pdas1740 también conocido Pdad3812). El fragmento insertado contiene una versión optimizada para plantas del gen ariloxialcanoato dioxigenasa (*add-1*) de *Sphingobium hervicidavorans*. La expresión del gen *aad-1* está controlada por el promotor de ubiquitina del maíz (ZmUbi1) y la secuencia de la región 3' no traducida (UTR) del gen de la peroxidasa del maíz (ZmPer5 3'UTR). El casete del gen *aad-1* está flanqueado por regiones de unión a la matriz (MAR) de *Nicotiana tabacum* (RB7 MAR v3y RB7 MAR v4). La expresión de la proteína AAD-1 confiere tolerancia al herbicida 2,4,-D y herbicidas FOPs, tales como quizalofop, haloxifop.

2. Diferencias del evento y Cultivar convencional

La evaluación de la composición de un producto GM en comparación con un convencional no GM con un historial de uso seguro en alimentos y piensos es una parte importante del enfoque de ponderación de las pruebas utilizadas para evaluar la seguridad de las plantas modificadas genéricamente. La evaluación de la composición del maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 se evaluó en comparación con el maíz cuasi-isolínea no modificado genéticamente cultivado simultáneamente (denominado maíz de control) para identificar diferencias estadísticas y posteriormente se evaluaron en el contexto de la variación biológica establecida a partir de múltiples fuentes de maíz no modificado genéticamente, datos de maíz comercial (maíz de referencia).

Se recolectaron muestras de forraje (etapa de crecimiento R4) y grano (etapa de crecimiento R6) durante la temporada de crecimiento 2021 en ocho sitios en regiones comerciales del cultivo del maíz de los Estados Unidos (un sitio en Illinois, Indiana, Nebraska, Pensilvania y Texas; dos sitios en Iowa) y Canadá (un sitio en Ontario). Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cuatro bloques en cada sitio. Cada bloque incluía maíz DP202216 x NK603 x DAS40278, maíz de control cuasi- isolínea no modificado genéticamente (no GM) (denominado maíz de control) y cuatro líneas de maíz comercial no GM.

Las muestras fueron evaluadas para componentes nutricionales clave. Se evaluaron analitos proximales, de fibra y minerales en las muestras de forraje (9 analitos en total), y en las muestras de grano se evaluaron los analitos proximales, de fibra, de ácidos grasos, de aminoácidos, minerales, vitaminas, metabolitos secundarios y antinutrientes (70 analitos en total). Los analitos incluidos en la evaluación de la composición se seleccionaron con base en el documento de consenso de la OCDE sobre consideraciones de composición para nuevas variedades de maíz

No se observaron diferencias estadísticamente significativas, entre el maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 y el maíz de control para 53 de los 74 analitos evaluados en el análisis entre sitios a través del análisis de modelos mixtos o la prueba exacta de Fisher. Se observó una diferencia estadísticamente significativa, antes del ajuste FDR, en el análisis entre sitios entre el maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 y el maíz de control para 21 analitos (ADF [forraje], proteína cruda [grano], carbohidratos [grano], ácido palmítico [C16:0], ácido heptadecanoico [C17:0], ácido esteárico [C18:2], ácido araquídico [C20:0], ácido behénico [C:22:0], arginina, calcio, hierro, fósforo y vitamina B1 [tiamina], el valor -P ajustado por FDR no fue significativo, lo que indica que las diferencias estadísticas identificadas probablemente fueron falsos positivos. Además, para 21 de estos analitos, el rango de valores para el maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 estuvo dentro de uno o más de los rangos de referencia (es decir, intervalo de tolerancia, rango de la literatura y rango de referencia en el estudio) que representa a la población de maíz no GM con un historial de uso seguro, lo que indica que el maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 está dentro del rango de variación normal para estos analitos y la diferencia estadística no es biológicamente significativa.

Los resultados de la evaluación de nutrientes demostraron que la composición en forraje y grano derivado del maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 fueron comparables a la del maíz

convencional representado por el maíz control cuasi-isolína no modificado genéticamente y el maíz comercial no modificado genéticamente.

Basados en el estudio realizado puede concluirse que el maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 es equivalente composicionalmente a su contraparte convencional no GM.

3. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto

Se realizó una hibridación de Southern blot para detectar los patrones de integración en el maíz apilado DP202216 x NK603 x DAS40278 y verificar que la equivalencia de las inserciones de DP202216, NK603, DAS40278 en el producto de características combinadas se mantuvieron después del cruce.

Estos análisis se realizaron utilizando ADN genómico extraído del tejido foliar de plantas de maíz DP202216 x NK603 x DAS40278, maíz DP202216, maíz NK603, maíz DAS40278 y maíz control con enzimas de restricción y sondas apropiadas para los genes *zmm28*, *mo-pat*, *cp4 epsps* o *aad-1*.

Tomados en conjunto, estos análisis se Southern blot confirman la presencia de las inserciones DP202216, NK603 y DAS40278 en el maíz DP202216 x NK603 x DAS40278 y demuestran que son consistentes y equivalentes a las inserciones de las correspondientes líneas de maíz de los eventos individuales después del cruce y que no se identificaron cambios en la inserción durante el proceso de mejoramiento.