

RESUMEN DE LA SOLICITUD AUTORIZACIÓN DE CANOLA RF3 PARA CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Nombre del solicitante BASF QUÍMICA COLOMBIANA S.A.	2. Nombre del contacto Tiffany Grace Acuña Benavente
3. Dirección del solicitante Calle 99 No. 69C – 32 Bogotá D.C. Teléfono: (60-1) 6322260 ext. 1978	4. Dirección del contacto Calle 99 No. 69C – 32 Bogotá D.C. Teléfono: (60-1) 6322260 ext. 1978
5. Nombre del producto (Identificador Único y otros nombres) Identificador OECD: ACS-BNØØ3-6 Otros Nombres: RF3	
6. Objetivo de la solicitud Autorización de uso de la canola RF3 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
7. Aprobaciones y usos en otros países El evento RF3 se encuentra aprobado en Australia, Canadá, China, Unión Europea, Japón, Nueva Zelanda, Filipinas, Corea del Sur, Taiwán y Estados Unidos para consumo humano y/o animal y/o siembra.	
8. Algún otro uso aprobado para el producto en el país. El evento RF3 cuenta con las siguientes aprobaciones en Colombia: - Uso Alimenticio Humano mediante Resolución INVIMA 20172023007711 del 1 de marzo de 2023. - Uso Alimenticio Animal en el evento apilado MON88302 x MS8 x RF3 mediante Resolución 00011246 de 15 de septiembre de 2017.	

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL ORGANISMO VIVO MODIFICADO - OVM

1. Nombre completo de parentales y/o Donadores: Reino: Plantae Phylum: Magnoliophyta Clase: Magnoliopsida Orden: Capparales Familia: Brassicaceae Género: Brassica Especie: <i>Brassica juncea</i> L. Nombre común: Canola

2. Descripción de la modificación genética:

El evento RF3 contiene el gen bar derivado de la bacteria *Streptomyces hygroscopicus* que codifica la proteína fosfotricina acetil transferasa (PAT/bar) y que confiere tolerancia a herbicidas con i.a. glufosinato de amonio. El gen bar está regulado por el promotor vegetal PssuAt que está activo en todos los tejidos verdes de la planta. El evento RF3 también contiene el gen barstar derivado de la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* que codifica la proteína Barstar (inhibidor de la proteína Barnasa) para introducir tolerancia a herbicidas con i.a. glufosinato de amonio a líneas de *Brassica juncea*.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA**1. Método usado para transformar la planta:**

El método de transformación empleado para la generación del evento de canola RF3 fue *Agrobacterium tumefaciens* utilizando el vector pTHW118 que contiene un casete del gen barstar para restauración de la fertilidad y un casete del gen bar, que codifica para la tolerancia a herbicidas con ingrediente activo glufosinato de amonio.

2. Diferencias del evento y Cultivar convencional:

Se realizaron análisis de composición para determinar los niveles de los principales nutrientes y antinutrientes entre la semilla de canola RF3 *Brassica juncea* (con y sin tratamiento herbicida), la variedad homóloga convencional 10CJ28-094, variedades convencionales de *Brassica juncea* calidad canola (45J10, Dahinda, Arid y VRO7) y variedades convencionales de *Brassica juncea* calidad mostaza (AC Vulcan, Centennial Brown y Cutlass) que se realizó a partir de 8 ensayos de campo establecidos en diferentes regiones representativas del cultivo de canola de Canadá y Estados Unidos durante la temporada 2017. Para contar con rangos que representaran la variabilidad natural para la evaluación comparativa de los datos de composición. Se determinaron los niveles de 92 componentes (proteína, ceniza, fibra, carbohidratos, aminoácidos, vitaminas, minerales, ácidos grasos y antinutrientes), de los cuales 67 componentes tuvieron valores superiores al límite de cuantificación (LOQ) para ser analizados estadísticamente (ANOVA).

De estos componentes 41 mostraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$); sin embargo, los niveles de estos componentes determinados en la canola RF3 *Brassica juncea* están dentro del rango e intervalo de tolerancia de las variedades convencionales de referencia, por lo tanto, las diferencias estadísticas observadas no se consideran biológicamente relevantes. No se observaron evidencias de efectos en el perfil global de nutrimentos de la canola RF3 en relación con la canola convencional, por lo tanto, se concluye que la semilla de canola RF3 *Brassica juncea* es sustancialmente equivalente en composición a la semilla de variedades de canola convencional disponibles comercialmente (Jeffries et al., 2019).

Los resultados del análisis de composición también confirmaron que RF3 *Brassica juncea* es de calidad de la canola convencional y cumple con el estándar regulado internacionalmente de $<2\%$ de ácido erúico en la fracción de aceite y $<30 \mu\text{mol/g}$ en la fracción de harina (OECD, 2011).

3. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto:

La estabilidad estructural del evento RF3 fue confirmada mediante análisis de transferencia Southern a través de cinco generaciones (F1, BC1, BC2, BC3 y BC3S2). El DNA genómico (gDNA) aislado de tejido foliar de plantas individuales de canola RF3 *Brassica juncea* fue digerido con la enzima de restricción NsiI, separado mediante electroforesis en gel de agarosa e hibridado con la sonda del T-DNA (P044) marcada con digoxigenina (DIG) (tabla 5, Figura 9). Adicionalmente se incluyó DNA genómico de la canola RF3 *Brassica napus* digerido con la enzima NsiI y que sirvió como línea de referencia para confirmar los resultados del análisis.

El análisis de transferencia Southern incluyó una muestra de gDNA de la variedad homóloga convencional 10CJ28-094 digerido con la enzima NsiI como control negativo. Además, otra muestra de gDNA de la misma variedad homóloga convencional digerida EcoRI fue utilizada como suplemento para el marcador de peso molecular. De manera similar, el análisis incluyó un control positivo que consistió en una muestra de gDNA de canola convencional suplementado con una cantidad equimolar del plásmido pTHW118 digerido con la enzima de restricción NsiI.

El DNA genómico de la canola RF3 *Brassica juncea* hibridado con la sonda del T-DNA (P044) mostró los fragmentos de integración 5' y 3' esperados de 1424 bp y 1850 bp en todas las muestras analizadas, los cuales coinciden con los fragmentos de integración determinados previamente para la canola RF3 *Brassica napus*. Estos resultados demuestran la estabilidad estructural del evento RF3 *Brassica juncea* a través de varias generaciones. El control negativo no mostró hibridación con la sonda del T-DNA confirmando la ausencia de hibridación de fondo (ruido de fondo) con la sonda utilizada. En todas las hibridaciones se detectaron los fragmentos de tamaño esperado, lo que indica que las condiciones experimentales de la transferencia Southern permitieron la hibridación de la sonda del T-DNA con las secuencias blanco.