RESOLUCIÓN No. 003043

(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso del maíz 3272 (SYN-E3272-5) 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 Syngenta S.A., en el marco de la legislación vigente, solicitó autorización al ICA para utilizar el maíz 3272 (SYN-E3272-5) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Que el maíz evento 3272, que expresa una proteína α-amilasa denominada AMY797E, se desarrolló por transformación genética de la línea de maíz A188, mediante *Agrobacterium tumefaciens* utilizando el vector de transformación pNOV7013.

Que la presencia la enzima AMY797E en los granos de este evento, mejora la producción de bioetanol mediante el desarrollo de la termoestabilidad de la amilasa utilizada para degradar el almidón presente. Las amilasas son enzimas que se encuentran ampliamente distribuidas en tejidos vegetales, donde juegan un rol muy importante en la degradación del almidón para diferentes procesos biológicos, por ejemplo en la germinación de las semillas. También se encuentran en tejidos animales donde están involucradas en el proceso de digestión; y en diversas especies de microorganismos como hongos y bacterias.

Que el gen quimérico *amy797E*, expresa una enzima amilasa termo-resistente sintetizada a partir de varias especies de *Thermococcus spp*, y ajustado para una expresión optima en plantas de maíz. Las enzimas alfa-amilasa catalizan la hidrólisis del almidón en dextrinas (fragmentos de almidón de 5 a 50 unidades de glucosa), maltosa y glucosa separando las uniones internas glucosídicas α-1,4. En este evento es regulado por el promotor GZein, que fue aislado de plantas de maíz y el terminador 35S del virus del mosaico de la coliflor.

RESOLUCIÓN No. 003043
(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso del maíz 3272 (SYN-E3272-5) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Que el gen de fosfomanosa isomerasa, *pmi*, cataliza la isomerización de manosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato, lo cual hace que la manosa sea utilizada como una fuente alternativa de carbono. Esto permite que este gen sea manejado como marcador de selección para el tejido o plantas transformada.

Que el proceso de transformación se inició mediante la obtención de embriones de maíz de entre 8 y 12 días de formados. Estos se mezclaron con la suspensión de células de *A. tumefaciens*, que ya contenían el vector de transformación, en un proceso que se conoce como co-cultivo, a una temperatura adecuada durante varios días. Luego, los embriones se cultivaron en un medio no selectivo. Posteriormente, aquellos que formaron tejido calloso, se transfirieron a un medio de cultivo, enriquecidos con manosa (monosacárido no tóxico) como fuente de carbono. El uso de la manosa fue con el objetivo de que solo crecieran aquellos que contenían el gen de fosfomanosa isomerasa, *pmi*, ya que sólo las plantas transgénicas que porten este gen pueden utilizar dicho monosacárido como fuente de carbono. Una vez cumplido todo el proceso, las plántulas seleccionadas fueron analizadas, mediante PCR TaqMan®, para comprobar que tuvieran los genes de interés. Las plantas que resultaron positivas para el gen *amy797E*, se chequearon para determinar o comprobar que estaban libres de otras secuencias presentes en el esqueleto del vector. Las plantas positivas para los genes de interés, y negativas para las secuencias del vector, fueron establecidas en el invernadero para su posterior propagación.

Que para comprobar la estabilidad genética del inserto y confirmar la presencia de una sola copia de cada uno de los genes, se realizaron análisis de *Southern blot* y análisis cuantitativo de TaqMan®-PCR. Los resultados obtenidos, demostraron la integración de una única copia de los genes *amy797E* y *pmi*, con sus respectivos elementos reguladores. Estos mismos análisis demostraron la ausencia, en el evento 3272, de secuencias del esqueleto o remanentes del plásmido de transformación pNOV7013.

Que para comprobar la estabilidad fenotípica se analizó los niveles de expresión de las proteínas AMY797E α-amilasa y PMI a través de múltiples generaciones de plantas de maíz derivadas del evento 3272. Hojas de plantas derivadas de cuatro generaciones de retrocruzamientos (B1, B2, B4, y B5) fueron recolectados en época de antesis para análisis de la proteína PMI y granos de plantas autopolinizadas, cosechados en época de madurez del grano, para el análisis de la proteína AMY797E. En general, los niveles de concentraciones de las dos proteínas, fueron similares a través de las cuatro generaciones analizadas y no hubo evidencia de ninguna tendencia significativa de aumento o disminución que indicara que la expresión de estas la proteínas no fuera estable.

Que el maíz 3272 es sustancialmente equivalente a otros maíces. Los estudios de características agronómicas y nutricionales mostraron que no había diferencias significativas entre este evento y los maíces convencionales. La única diferencia de importancia entre este y otros maíces convencionales es la expresión del transgen, que contiene los genes de expresión para la enzima α-amilasa AMY797E y la proteína PMI.

RESOLUCIÓN No. 003043

(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso del maíz 3272 (SYN-E3272-5) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Que el maíz 3272 produce la proteína termoestable alfa-amilasa AMY797E por la expresión del gen *amy797E*. Este es un gen quimérico derivado de las secuencias de 3 genes de alfa-amilasa, originados de tres organismos hipertermófilos del orden Termococcales.

Que en el estudio de alimentación a pollos de engordes, tres lotes de grano de maíz fueron usados para preparar las correspondientes dietas de engorde. Las dietas fueron designadas "Evento 3272 Positivo" (preparada con grano de las plantas del evento 3272), "Evento 3272 Negativo" (preparada con grano de plantas control no transgénicas casi-isogénicas) y "NC 2004", preparada con un lote de un grano comercial disponible, cultivado en Carolina del Norte en la temporada 2004". Las dietas fueron dadas a las aves por un período de 49 días para permitirles alcanzar la edad y peso corporal, aproximándose al límite superior del rango de peso corporal normal para procesamiento de pollos de engorde. Los puntos finales de desempeño medidos en este estudio incluyen efectos en la supervivencia, peso corporal, eficiencia alimenticia y rendimiento de carcasas". Los resultados de los análisis mostraron que en general, los pollos no se vieron afectados por el consumo de dietas basadas en granos cosechados de plantas de maíz del evento 3272, ya que no hubo incidencia en la salud, ni en la producción de los pollos en todo el ensayo.

Que en el caso del estudio con ratas, los parámetros evaluados fueron: supervivencia, signos clínicos, peso corporal, oftalmoscopia, consumo y conversión de alimentos, patología clínica, hematología, análisis de sangre, análisis post-mortem y peso de órganos, entre otros. Los resultados de estos análisis mostraron que en general, no hubo ningún efecto en los parámetros que se evaluaron, ni diferencias significativas que fueran atribuibles al consumo de estas dietas. En resumen y de acuerdo a estas evidencias, obtenidas tanto en pollos de engorde y como en ratas, se puede inferir que el maíz 3272 no afecta la salud de animales no blanco.

Que la enzima alfa-amilasa es una proteína que está presente en bacterias, en animales, incluyendo los humanos y en numerosas especies vegetales, como cebada, arroz y maíz, entre otros. Las alfa amilasas derivadas de hongos y bacterias tienen un largo historial de uso, han sido utilizadas para actuar sobre el almidón durante el proceso de producción de distintos alimentos, por lo tanto se sabe que estas amilasas, de distintos orígenes, han estado siempre presentes en la dieta de humanos y animales. Sin embargo, para garantizar que la enzima producida en el evento 3272 no causa problemas para la salud, se evaluó su toxicidad y alergenicidad potencial, al igual que la de la proteína PMI. Esta última ya tiene un amplio historial de uso seguro en materiales transgénicos.

Que el potencial de alergenicidad de la proteína AMY797E, se evaluó utilizando el enfoque de "peso de la evidencia" (de acuerdo al *Codex Alimentarius* del 2003). El enfoque de "peso de la evidencia" se adoptó porque no existe una única prueba definitiva para predecir la respuesta alérgica de los alimentos en humanos. Para ello se utilizaron cuatro ítems: el origen de la proteína introducida, evaluación sobre si la proteína introducida comparte una homología significativa de secuencias de aminoácidos con proteínas alergénicas conocidas, la susceptibilidad de la proteína a la digestión en condiciones gástricas de mamífero simuladas y la susceptibilidad de la proteína a la inactivación por calor.

RESOLUCIÓN No. 003043
(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso del maíz 3272 (SYN-E3272-5) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Que la susceptibilidad a la degradación proteolítica de la proteína α-amilasa AMY797E, fue evaluada en fluido gástrico simulado de mamífero (FGS) conteniendo pepsina y bajo condiciones intestinales de mamíferos simuladas. Los resultados mostraron que esta proteína, bajo las condiciones FGS, fue degradada dentro de un período relativamente rápido, cinco minutos. Resultados similares fueron obtenidos con la proteína PMI, la cual se degrada rápidamente en condiciones de fluidos gástricos e intestinales de mamíferos simulados.

Que para el estudio de degradación de la proteína α-amilasa AMY797E, bajo condiciones intestinales de mamíferos simuladas, los resultados no mostraron indicios de destrucción de esta proteína, durante el máximo tiempo del estudio, que fue de 60 minutos. Los resultados de estabilidad de esta proteína al tratamiento por calor, mostraron que es inestable al 100%, sólo cuando es sometida a temperaturas iguales o superiores a 120°C. Caso contrario ocurre con la proteína PMI, la cual es rápidamente degradada bajo condiciones intestinales y gástricas de mamíferos simuladas.

Que se estableció un estudio *in silico*, para determinar si la proteína AMY797E, introducida en el maíz 3272, podría tener identidad con algún o algunos alergénicos o tóxicos conocidos. Para ello se realizó una comparación de secuencias de aminoácidos a nivel de bioinformática. Igual procedimiento se había hecho para la proteína PMI. La comparación para hallar similitud entre la secuencia de aminoácidos de la proteína AMY797E y alguna toxina, se realizó mediante análisis BLAST usando el programa BLASTN, en la base de datos NCBI (*National Center for Biotechnology Information Entrez® Protein Database*-2011). Para el caso de alérgenos, la secuencia de la proteína se comparó, con la base de dato especializada en el tema: *FARRP Allergen Database*; Versión 11,0, la cual contiene más de 1490 secuencias de alérgenos conocidos y putativos. Los resultados de este estudio revelaron que la proteína AMY797E no tiene ninguna similitud significativa con secuencias tóxicas o alergénicas que reposan en esas bases de datos. Sin embargo, en el caso de secuencias alergénicas, cuando se usaron ventanas de 8 aminoácidos adyacentes, se encontró que una de estas ventanas (SYCGVGSE) de la proteína AMY797E, tuvo una coincidencia en dos proteínas alergénicas muy relacionadas (Cr-PI precursor *Allergen* Per a 3 y *Allergen* Per a 3.01), aisladas de *Periplaneta americana* (cucaracha americana).

Que la actividad o el potencial alergénico de esta secuencia, fue investigada mediante la implementación de inmunoensayos (conjugación de anticuerpos y antígenos) de *wester blot* para el anticuerpo IgE, específico para humanos, usando la proteína AMY797E y el *Allergen* Per a 3.01, para identificar el potencial que pudieran tener estas dos proteínas de compartir epítopes inmunológicamente relevantes y de esta manera determinar si ellas pudieran inducir síntomas similares. El suero de cinco personas que clínicamente comprobadas alérgicas al Per a 3.01 de cucarachas, se utilizó para medir la reactividad del anticuerpo *IgE* específico Per un 3.01 con la proteína AMY797E. Los resultados mostraron que no había reconocimiento de ninguna fracción de la proteína AMY797E, por lo tanto no se considera un epítope alergénico. Como conclusión los autores expresan que no existe evidencia que la proteína AMY797E comparta anticuerpos específicos con el alergénico Per a 3.01, provenientes de la cucaracha americana, aunque ellas compartan una porción de ocho aminoácidos.

RESOLUCIÓN No. 003043

(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso del maíz 3272 (SYN-E3272-5) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Que para un mayor análisis, también se midió el nivel de expresión de cada una de las proteínas transgénicas expresadas en el maíz 3272, a través de ELISA en varios tejidos de las plantas. Como plantas controles se usaron muestras de tejidos de las plantas no transgénicas (isolíneas) cultivadas en las mismas condiciones y durante la misma época.

Que los resultados para la proteína PMI mostraron que ella tuvo expresión en todos los tejidos de la planta, ya que posee un promotor constitucional, es decir que se expresa en toda la planta. La mayor concentración de PMI se encontró en el polen. El rango de los niveles de esta proteína en este órgano estuvo en el orden de 17.0 - 18.2 µg/g de peso seco, seguido por la los contenidos en hojas, donde fue muy variable, y dependió principalmente, del estado fenológico del cultivo y del híbrido evaluado.

Que para la proteína α-amilasa (AMY797E), como se esperaba, la expresión se dio a nivel de granos, debido a que el promotor que dirige dicha expresión, corresponde al del gen de la gama-zeína, que es una proteína de almacenamiento de la semilla del maíz, que se expresa específicamente en el endospermo. El rango del nivel de expresión de la proteína AMY797E, que se encontró en los granos de este evento, fue de 1004 a 3365 µg/g de peso seco.

Que los ensayos de alimentación en ratones y pollos de engordes, dejaron ver que la AMY797E, no causó ningún síntoma de toxicidad en los animales que la consumieron. Como resultado de estos estudios se muestra que ningún animal resultó muerto durante el ensayo, ni se detectaron signos clínicos de toxicidad. Tampoco se presentaron efectos sobre la ganancia de peso corporal en ninguno de los grupos, ni se encontró ninguna anormalidad observable en los animales, cuando se sacrificaron al final del estudio. Los resultados de los estudios mencionados arriba, disminuyen enormemente la posibilidad de que potencialmente las proteínas AMY797E y PMI, sean o se conviertan en agentes alergénicos o tóxicos para los animales que las consuman.

Que el evento 3272 es un maíz transgénico, el cual fue producido a través de ingeniería genética. Este maíz contiene un transgen que tiene la secuencia de los genes *amy797E* y *pmi* y toda la batería para su correcta expresión en plantas.

Que el análisis de composición se realizó en forraje y grano de plantas del evento 3272 y la isolínea no transgénica, que fue usada como control. Las plantas fueron sembradas en condiciones de campo en los Estados Unidos, en un arreglo de bloques completos al azar, en el 2003 (dos híbridos transgénicos y dos isohíbridos no-transgénicos) y en el 2004 (un híbrido transgénico y un isohíbrido no-transgénico).

Que el evento Maíz 3272 cuenta con aprobación para liberación al medio ambiente en Australia, Canadá, Corea del Sur, Estados Unidos, Filipinas, Japón, México, Nueva Zelanda, Rusia 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

RESOLUCIÓN No. 003043
(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso del maíz 3272 (SYN-E3272-5) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Rural; Colciencias y el ICA, se presentaron los resultados de la "Evaluación de riesgos potenciales en maíz 3272 (SYN-E3272-5) 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 3272 (SYN-E3272-5) 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 3272 (SYN-E3272-5) para consumo directo y/o como materia prima para la elaboración de alimentos para animales domésticos presentado por la empresa Syngenta S.A., NIT 830.074.222-7, cuyo representante es el señor Andrés Correa LaVerde.

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 3272 (SYN-E3272-5) 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 3272 (SYN-E3272-5) 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 3272 (SYN-E3272-5) 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.

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.

RESOLUCIÓN No. 003043

(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso del maíz 3272 (SYN-E3272-5) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

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 artículo 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: / A.AR
Revisión Jurídica
VoBo: Jefe Oficina Jurídica: