

RESOLUCIÓN No. 003051

(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso de la soya DAS- 68416-4 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 las empresa Dow AgroSciences de Colombia S.A. y Compañía Agrícola S.A.S., en el marco de la legislación vigente, solicitaron autorización al ICA para utilizar la soya DAS- 68416-4 para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Que el evento Soya DAS-68416 se desarrolló para expresar resistencia a los herbicidas 2,4-D y el Glufosinato de Amonio, mediante la expresión de las proteínas *ariloxialcanoato dioxigenasa-12* (AAD-12) y la *fosfinotricina acetiltransferasa*. Para ello se introdujeron dos genes, el gen *aad-12* y el gen *pat*, en el genoma de la línea de soya "Maverick" usando el vector binario pDAB4468. Cada uno de estos genes constituía un casete de expresión, que contienen cada uno de los elementos regulatorios propios para su expresión en el tejido vegetal.

Que la proteína AAD-12, es una enzima con actividad *dioxigenasa* dependiente del alfa *cetoglutarato* que cataliza la inactivación metabólica o la degradación de la cadena lateral del 2,4-D, anulando la función herbicida de este compuesto. La secuencia del gen que codifica la enzima AAD-12, fue aislado de la bacteria *D. acidovorans*, antiguamente conocida como *P. acidovorans*, y optimizada para su expresión en planta. *D. acidovorans* es un bacilo Gram negativo que vive en diferentes hábitats, principalmente en el suelo y ha sido utilizada en la industria de procesos de alimentos, como por ejemplo el proceso de bioconversión para la producción de vainilla. El casete de expresión del gen *aad-12* está constituido por el promotor poliubiquitin UBQ10 (*AtUbi10*) de *Arabidopsis thaliana*, seguido por la secuencia del gen *aad-12* y una secuencia 3' UTR que contiene también la región terminadora de la transcripción y el sitio de poliadenilación del marco de lectura abierto 23 (AtuORF23) de *A. tumefaciens* pTi15955.

Que la secuencia del gen *pat* se derivó del actinomiceto del suelo *S. viridochromogenes* que codifica para la enzima *fosfinotricina-N-acetil-transferasa*, la cual inactiva la L-fosfinotricina de los herbicidas

RESOLUCIÓN No. 003051

(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso de la soya DAS- 68416-4 para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Glufosinato de Amonio. El gen de esta enzima, se incluyó en este evento con el fin de utilizarla como marcador de selección de las células vegetales transformadas, sin embargo se puede utilizar en campo, ya que las plantas expresan la tolerancia a este tipo de herbicidas.

Que para el caso de la proteína PAT, el casete de expresión estuvo constituido por el promotor CsVMV (virus del mosaico de las nervaduras de la yuca), y la secuencia 3' UTR que contiene también la región terminadora de la transcripción y el sitio de poliadenilación del marco de lectura abierto 1 (AtuORF1) de *A. tumefaciens* pTi15955. El gen *pat* ha sido utilizado en muchos eventos transgénicos que ya han sido aprobados en diferentes países, incluso en el nuestro.

Que con el evento DAS-68416 se pretende proporcionar un material de Soya que presente tolerancia a los herbicidas de los grupos fenóxidos (2,4-D), piridiloxiacetatos y al glufosinato de amonio. La enzima fosfonitrocina acetiltransferasa (PAT), es una enzima que acetila la fosfinotricina o glufosinato en el extremo N-terminal, generando un derivado acetilado e inactivo que no posee actividad herbicida. Mientras que la AAD-12 es otra enzima que tiene actividad dioxigenasa que inactiva los herbicidas de la familia fenóxidos (2,4-D) y ariloxialcanoato.

Que la soya DAS-68416 fue desarrollada mediante modificación genética con *A. tumefaciens* (cepa EHA101). Para ello se usó el vector pDAB4468, quien contiene dos casetes de expresión, uno para la proteína PAT y el otro para la proteína AAD-12. La estabilidad e integridad de la inserción genética y la expresión fenotípica se evaluó mediante análisis de *Southern blot*, análisis de segregación de la herencia Mendeliana y análisis de expresión de las proteínas, sobre cuatro generaciones distintas: T2, T3, T4 Y T5, del evento DAS-68416.

Que para el análisis de *Southern blot* se usaron diferentes secuencias del transgen, incluyendo algunas de los elementos de control de la expresión de cada uno de los genes introducidos. Para el análisis de expresión de la proteína AAD-12, se usó un kit de inmunocromatografía, tiras de flujo lateral para detección específica de esta proteína. Los resultados del análisis de *Southern blot* y de expresión de las proteínas mostraron que el evento fue estable en todas las cuatro generaciones evaluadas. Además, el *Southern blot* reveló que las plantas de este evento contienen sólo una única copia de cada casete de expresión de las proteínas AAD-12 y PAT y no mostró evidencias de la presencia de otras secuencias del plásmido pDAB4468, usado como vector de transformación.

Que el análisis de herencia o segregación se hizo mediante la detección de la proteína AAD-12 y el análisis de *Southern blot* de plantas individuales de una población F2, proveniente del cruce de plantas T4 del evento DAS-68416 con una línea de soya convencional. De igual forma se implementó un análisis *Chi* cuadrado (X^2) con los datos de herencia de las características mencionadas, en cuatro generaciones, de la soya DP3560435, para determinar la estabilidad y la heredabilidad mendeliana de los genes. La *chi* cuadrado es un análisis que se basa en la comparación entre los datos que se esperan y los datos que se observan en cada generación, según las leyes de Mendel.

Que el análisis estadístico con la prueba de *chi*-cuadrado, mostró que la proporción de plantas que expresaron la proteína AAD-12 fue de 3:1, lo cual concuerda con la segregación mendeliana de un gen dominante. Este hecho confirma que el inserto, con los dos casetes, tiene una única copia en el genoma de esta soya. Para corroborar los resultados obtenidos con las tiras de flujo lateral, cada una de las plantas de la F2 fue sometida a análisis de *Southern blot*. De acuerdo con los resultados,

RESOLUCIÓN No. 003051

(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso de la soya DAS- 68416-4 para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

se mantuvo la relación 3:1, es decir, las plantas donde se detectó la expresión de la proteína dieron positiva en el análisis molecular y las que no, no mostraron el fragmento respectivo. En conclusión, los resultados muestran que los genes y los productos expresados por ellos, presentan estabilidad genética y fenotípica en todas las diferentes generaciones donde fueron evaluadas.

Que inicialmente, la única diferencia de la soya DAS-68416 (OVM) y su contraparte no transgénica, es la inserción de una sola copia funcional del gen modificado *pat* y una copia funcional del gen *aad-12*. Los estudios de caracterización agronómica, fenotípica y composición nutricional demostraron que la soya DAS-68416 es equivalente a su contraparte no transgénica. La gran diferencia es el contenido de las proteínas AAD-12 y PAT.

Que las plantas de soyas que contienen el evento DAS-68416 expresan las proteínas AAD-12 y PAT, las cuales le confieren tolerancia a los herbicidas 2,4-D y al glufosinato de amonio. La proteína AAD-12 proviene de un gen que fue aislado de la bacteria del suelo *D. acidovorans*, la cual es muy común en casi todo tipo de ambiente. Este hecho hace que tanto humanos como animales estén expuestos regularmente a este organismo y a sus componentes, sin que hasta el momento se hayan reportado consecuencias adversas para ellos. De hecho, ha sido utilizada para producir saborizantes como es el caso de la conversión del ácido ferúlico en vainilla, lo que la hace estar relacionada con la industria de alimentos para humanos. La secuencia del gen que codifica la proteína PAT, viene de otra bacteria del suelo, *S. viridochromogenes*, la cual no ha tenido reporte de causar algún efecto adverso en la salud humana o en animales, por el contrario, esta proteína tiene un amplio historial de uso para consumo en la alimentación a través de otros eventos que ya han sido evaluados y aprobados.

Que los ensayos de alimentación de pollos de engorde con dietas que contienen al evento DAS-68416, comparado con su contraparte no transgénica (variedad "Maverick") y con tres variedades comerciales no transgénica (LG C3540, Pioneer 93B82 y HiSOY 38C60) mostraron que no hubo diferencias significativas en el crecimiento de los pollos alimentados con cada una de las dietas y tampoco en las variables de rendimiento como es el caso, aumento de peso, eficiencia alimenticia (corregida por la mortalidad) rendimiento en canal entre los pollos de engorde y de mortalidad.

Que de acuerdo con información del solicitante, iguales resultados fueron obtenidos en un ensayo de alimentación con la proteína AAD-12 realizado con ratones. En este caso el ensayo tuvo como objetivo determinar si la administración oral de la proteína AAD-12, en una sola dosis de 2000mg/kg, tenía efectos adversos en la salud de los ratones, 15 días después ingerida. Los ratones sometidos a los tratamientos tenían aproximadamente 8 semanas de edad en el momento del ensayo. Los ratones fueron observados durante 15 días, diariamente, para observar mortalidad, ganancia de peso corporal y signos clínicos de toxicidad, enfermedad o lesión. Luego de este tiempo los animales fueron sometidos a la eutanasia.

Que los resultados mostraron que no hubo signos clínicos de toxicidad sistemática y aunque se presentó un caso de un quiste en la corteza del riñón en una de las hembra de ratón, los autores lo interpretaron como una cuestión espontánea, que no fue considerada como un efecto por ingerir la proteína AAD-12, ya que fue un hecho aislado que no se acompañó de otros signos degenerativos. Según Engelhardt *et al.* (1993), estos fenómenos son muy frecuentes en ratones de laboratorio. Durante el ensayo ningún ratón resultó muerto.

RESOLUCIÓN No 003051

Por la cual se autoriza el uso de la soya DAS- 68416-4 para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

Que se realizaron algunas comparaciones bioinformáticas con el objetivo de descartar que las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos, de ambas enzimas, presentaran correspondencia con alguna o algunas proteínas que ya han tenido historial de causar problemas en la salud. El transgen introducido presentó ocho posibles marcos de lecturas abiertos (ORF, por su sigla en inglés), los cuales fueron evaluados para determinar su potencial de causar alergias o toxicidad, por comparación *in silico*. El análisis se realizó comparando en la base de datos *Food Allergy Research and Resource Program* (FARRP), de la Universidad de Nebraska, <http://www.allergenonline.com/>, Versión 10. Para evaluar la toxicidad se usaron las bases de datos de proteínas de Uniprot_Swissprot, PIR (*Protein Information Resource*), PRF (*Protein Research Foundation*) y la PDB (*Protein Data Bank*). Los resultados, mostraron que ninguna de las dos proteínas posee identidad con toxinas o alérgenos conocidos. En conclusión, según los datos y los reportes en la literatura, estas dos proteínas producidas en el evento DAS-68416, no causan problemas en la salud humana ni animal.

Que el potencial alergénico de las proteínas AAD-12 y PAT, presentes en el evento DAS-68416, se evaluó siguiendo el procedimiento paso a paso y el peso de la evidencia según el *Codex Alimentarius Commission* (2003). A pesar que no se adjuntaron los estudios originales, en los resúmenes se plantea que ambas proteínas son termolábiles y se digiere rápidamente bajo condiciones simuladas de fluidos gástricos. Bajo estos resultados se puede concluir que estas proteínas no son potencialmente agentes alergénicos. Este hecho quedó evidenciado en el trabajo de Herman *et al.* (2011a), donde se alimentaron pollos de engorde con dietas en base a el evento DAS-68416 y los resultados mostraron que esta soya es nutricionalmente equivalente a las soyas no transgénicas usadas como control. En términos generales este trabajo no evidenció ningún efecto tóxico o alergénico en los pollos alimentados con este evento.

Que los estudios en ratones y pollos de engordes, mostraron que al menos en estos animales, la soya DAS-68416, no produce efectos adversos en su salud. En conclusión y Según los datos, ninguna de las dos proteínas son potencialmente alergénicas ni tóxicas ya que no se encontraron homologías entre sus secuencias y las secuencias de proteínas alergénicas o tóxicas, cuyas secuencias están publicadas en las bases de datos y bajo procesos *in vitro* no mostraron ser potencialmente dañinas para la salud.

Que para demostrar que al evento de soya DAS-68416 no se le ha alterado ninguna de las características nutricionales propias de las soyas convencionales, se llevó a cabo un análisis de la composición nutricional del grano y del forraje de DAS-68416 y se comparó con los niveles que produce la isolínea no transgénica y los que producen seis materiales convencionales (Pioneer 93M62, LG Seeds C3884N, Arise 9E394, Phillips 363, HiSOY 38C60 y Hoffman H387) disponibles en el mercado. En total, se evaluaron 84 analitos diferentes (75 en grano y 9 en el forraje), incluyendo algunos antinutrientes presentes, naturalmente en las soyas. Los contenidos de cada uno de los analitos se compararon con los valores publicados para soya.

Que los resultados mostraron que esta soya es nutricionalmente equivalente a las soyas convencionales. El análisis del forraje de la Soya DAS-68416 No mostró diferencia significativa con respecto a los niveles obtenidos en la variedad "Maverick" (iso-línea no transgénica), a excepción de los contenidos de proteína, el cual estuvo por debajo de su contraparte no transgénica, pero se mantuvo dentro de los rangos existentes dentro de la literatura especializada. Igual ocurrió a nivel del grano. Como se muestra en algunos ejemplos de las tablas siguientes, hubo algunos casos donde se

RESOLUCIÓN No. 003051
(05 JUL 2013)

Por la cual se autoriza el uso de la soya DAS- 68416-4 para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

presentaron diferencias significativas, pero según los autores, estas se deben más al tipo análisis y al diseño experimental que a los niveles diferenciales; ya que las diferencias no son tan evidentes, además los valores en la mayoría de los casos se hallan dentro de los rangos que se están en la literatura.

Que una prueba contundente de los efectos que este evento de soya tiene en la alimentación de animales se dio con el estudio de alimentación en pollos de engorde, donde los resultados confirmaron que esta soya es nutricionalmente equivalente a las soyas convencionales que se utilizaron en esa investigación. En resumen, las evidencias indican que la Soya DAS-68416 tiene una composición nutricional equivalente a las presentadas por las variedades convencionales y que la introducción de los genes *aad-12* y *pat* no tienen efectos directos ni pleiotrópicos que afecten la composición nutricional de la Soya DAS-68416.

Que el evento soya DAS-68416-4 tiene aprobación de uso, desde el 2011, en Australia, Canadá, Estados Unidos, Japón, Méjico y Nueva Zelandia.

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 soya DAS- 68416-4 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 de la soya DAS- 68416-4 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 de la soya DAS- 68416-4 para consumo directo y/o como materia prima para la elaboración de alimentos para animales domésticos presentado por las empresas Dow AgroSciences de Colombia S.A., NIT 800.087.795-2 y Compañía Agrícola SAS NIT 830.080.640-7, cuyos representantes legales son los señores José Coz Sánchez y Andrés Guillen respectivamente.

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 la soya DAS- 68416-4 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 la soya DAS- 68416-4 para consumo directo y/o como materia prima para la elaboración de alimentos para animales domésticos deberán cumplir además las siguientes obligaciones:

RESOLUCIÓN No. 003051

(05 JUL. 2013)

Por la cual se autoriza el uso de la soya DAS- 68416-4 para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos.

1. La soya DAS- 68416-4 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.

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: ALB
Elaborado por: / A.A.R.
Revisión Jurídica: 47
VoBo: Jefe Oficina Jurídica: