



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Análisis de la equivalencia
sustancial de maíz *off patent*
(evento TC1507) con resistencia a
insectos y con tolerancia al
herbicida glufosinato de amonio**

Hernán Darío Suárez Rodríguez

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2021

Análisis de la equivalencia sustancial de maíz *off patent* (evento TC1507) con resistencia a insectos y con tolerancia al herbicida glufosinato de amonio

Hernán Darío Suárez Rodríguez

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias Agrarias

Director

Ph.D Alejandro Chaparro Giraldo (Q.E.P.D.)

Director encargado

Ph.D. Orlando Acosta Losada

Línea de Investigación:

Genética y Fitomejoramiento

Grupo de Investigación:

Ingeniería Genética de Plantas

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2021

*En memoria de mi maestro, el profesor
Alejandro Chaparro Giraldo*

Agradecimientos

A mi maestro, el profesor Alejandro Chaparro Giraldo (Q.E.P.D.), por sus enseñanzas, apoyo, confianza y ejemplo en el pensar, sentir y actuar.

A la Universidad Nacional de Colombia, mi alma *mater*, escenario de alegrías y tristezas, de investigación y lucha. Por su formación, instalaciones, laboratorios, equipos, y personas que habitan sus campus.

A la Federación Nacional de Cultivadores de Cereales y Leguminosas (FENALCE), financiadores de este trabajo de investigación, en especial a su gerente, el doctor Henry Vanegas por sus comentarios y apreciaciones sobre el trabajo realizado, al doctor José Ever Vargas por el apoyo en el ensayo de campo y envió de las muestras, y al ingeniero Julio Duarte por su gestión.

Al profesor Orlando Acosta por acogerme en ausencia del profesor Alejandro.

A las integrantes del grupo de Ingeniería Genética de Plantas (IGP): Daniela Díaz, Jenny Jiménez, Julián Mora, Yadira Abril, Juan Romero, Meike Estrada, Fabián Villamil, Daniela Portela, por todas sus apreciaciones y comentarios que enriquecieron el trabajo.

A Diego Benítez, por su amistad, apoyo, correcciones y sugerencias en la parte estadística.

A las jurados, Kelly y Adriana, por sus aportes que ayudaron a robustecer este documento.

A mi mamá, María Belén, a mi papá Henry, y a mi hermanita Carol por su amor y apoyo incondicional desde que tengo recuerdo. A Lorena Gámez por el amor en los tiempos de la sindemia del SARS-COVID19.

A Alexandra Elbakyan creadora de Sci-Hub, por permitir el libre acceso al conocimiento científico.

Resumen

Análisis de la equivalencia sustancial de maíz *off patent* (evento TC1507) con resistencia a insectos y con tolerancia al herbicida glufosinato de amonio

Este estudio fue diseñado para realizar el análisis de la equivalencia sustancial del maíz *off patent* (evento TC1507), que contiene los genes que codifican para las proteínas CRY1F y PAT, que le confieren resistencia a insectos lepidópteros y tolerancia al herbicida glufosinato de amonio. Se llevó a cabo una revisión tecnológica para recopilar los estudios con los que se sustentó la equivalencia sustancial en Colombia y en las principales agencias regulatorias en el mundo el evento de maíz transgénico TC1507, junto con el análisis de la equivalencia sustancial que se realizó a partir de la comparación de los niveles de los componentes nutricionales de los analitos proximales en los tejidos de grano y forraje de los genotipos *off patent* de plantas de maíz transgénicas y genotipos de maíz convencional. Los niveles de los analitos evaluados en las plantas transgénicas se encontraron dentro de los rangos publicados en la literatura para el maíz no transgénico y fueron estadísticamente no significativos del maíz convencional del cual derivan (líneas elite de maíz). Estos resultados constituyeron una parte de la evidencia con la que se sustentaron y solicitaron ante las instituciones regulatorias nacionales, INVIMA e ICA, la autorización para consumo de seres humanos y animales en Colombia, del primer maíz transgénico en el mundo desarrollado con base en tecnologías que están en dominio público.

Palabras clave: Maíz transgénico, *off patent*, equivalencia sustancial, composición de nutrientes, análisis composicional

Abstract

Substantial equivalence analysis of off-patent corn (event TC1507) with insect resistance and glufosinate-ammonium herbicide tolerance.

This study was designed to carry out the substantial equivalence analysis of the *off patent* corn event TC1507, which contains the genes that code for the CRY1F and PAT proteins, which confer resistance to lepidopteran insects and tolerance to the herbicide glufosinate ammonium, respectively. A review was carried out aimed at gathering information on the studies that supported substantial equivalence in Colombia and on those of the main regulatory agencies throughout the world about the transgenic corn event TC1507. Substantial equivalence analysis also included comparison of nutritional component levels from tests for proximate analytes present in grain and forage tissues from both transgenic *off patent* corn and conventional corn genotypes. Analyte levels assessed in transgenic plants were found within the ranges published in the literature for non-transgenic corn and were statistically indistinguishable from the conventional corn from which they were derived (elite corn lines). These results are part of the evidence that supported the application submitted to the national regulatory institutions INVIMA and ICA in order to obtain authorization for animal and human consumption. This is the first domestically developed corn genotype containing the off-patent event TC-1507, since the technology that made it possible is already in the public domain.

Keywords: *Off-patent* transgenic corn event, substantial equivalence, nutritional composition, compositional analysis

Contenido

	Pág.
Resumen.....	IX
1 Introducción.....	1
2 Justificación.....	5
3 Objetivos.....	6
3.1 Objetivo general.....	6
3.2 Objetivos específicos.....	6
4 Planteamiento del problema.....	7
5 El concepto de equivalencia sustancial.....	9
5.1 Metodologías analíticas.....	10
5.2 Consideraciones en la evaluación de la equivalencia sustancial.....	13
6 Materiales y Métodos.....	17
6.1 Revisión del maíz transgénico TC1507.....	17
6.2 Ensayo de campo.....	17
6.3 Análisis estadístico.....	18
7 Resultados y discusión.....	19
7.1 Revisión del análisis de la equivalencia sustancial del maíz TC 1507.....	19
7.2 Regulación del Maíz 1507 en el mundo.....	42
7.3 Regulación en Colombia.....	44
7.4 Ensayo de campo en Colombia 2020.....	45
8 Conclusiones.....	56
Bibliografía.....	59

1 Introducción

Las primeras plantas transgénicas se produjeron a principios del decenio de 1980 por medio de la transformación con *Agrobacterium tumefaciens* como vector para introducir un nuevo gen en las plantas (Bevan *et al.*, 1983; Herrera-Estrella *et al.*, 1983). Los primeros cultivos transgénicos o genéticamente modificados (GM) se liberaron comercialmente en 1996, después de superar las evaluaciones de bioseguridad e inocuidad, y hasta la fecha han sido adoptados por los agricultores de más de 28 países, representando para el 2018 la mayoría de la superficie cultivada de varias de las especies domesticadas más importantes: maíz, soya, algodón y canola (Duke & Cerdeira, 2010; Brookes & Barfoot, 2018).

Se denominan eventos a la localización precisa en el genoma del hospedero del casete de expresión que responde por la característica de interés. Los eventos que confieren tolerancia a herbicidas y los que confieren resistencia a insectos son los rasgos introducidos más ampliamente, y han beneficiado a los agricultores adoptantes, quienes han obtenido mayores rendimientos, disminuyendo costos de insumos y generando menor contaminación ambiental (Brookes & Barfoot, 2018; Carpenter, 2010; Cerdeira *et al.*, 2011).

Después de más de 20 años de la liberación comercial de los primeros cultivos transgénicos, las patentes que cubrían estos eventos comenzaron a expirar y ahora constituyen parte del dominio público. Estas patentes fueron válidas durante 20 años después de su concesión en cada uno de los países donde fueron presentadas y aprobadas (Rüdelsheim, *et al.*, 2018). En contraste con el desarrollo de productos genéricos en las industrias farmacéutica y agroquímica, los actuales marcos regulatorios sobre los cultivos transgénicos de cada país tienen un desafío a la hora de establecer una política regulatoria para la siembra, liberación comercial y uso como alimento para seres humanos y animales de los cultivos *off patent*, cuyos

eventos han sido previamente autorizados y que a futuro permitirían una industria de cultivos *off patent* viable (Rüdelsheim, *et al.*, 2018). El plazo para la comercialización de un evento es aproximadamente 14 años para el primer lanzamiento comercial (Fraley, 2015) y una inversión elevada (McDougall, 2011), en particular para cumplir con todos los requisitos regulatorios.

Uno de los aspectos más importante para la adopción de cultivos transgénicos, y con frecuencia el más controvertido, ha sido si estos son tan seguros como los cultivos convencionales con respecto al consumo como alimento para seres humanos y animales. El proceso comparativo de la evaluación de la inocuidad de un alimento o alimento derivado de cultivos transgénicos se basa en el concepto de que existe una "certeza razonable de que no hay peligro" debido a su uso previo (FAO/OMS, 1996). Este proceso compara las características fenotípicas y la composición del cultivo transgénico con el de su cultivo homólogo convencional que tiene un historial de uso seguro (FAO, 2000). El proceso se conoce como análisis equivalencia sustancial, que es utilizado por muchas autoridades reguladoras y de inocuidad de los alimentos en todo el mundo, como una parte clave de la evaluación de la seguridad de los alimentos y/o derivados de cultivos transgénicos. Más allá de esta comparación composicional, se realizan evaluaciones de seguridad que incluyen el rendimiento agronómico del cultivo, la seguridad del gen introducido, el potencial tóxico y alergénico de la proteína expresada y los efectos no deseados debido a la inserción del gen (FAO, 2000). Dentro de estas evaluaciones de seguridad, el análisis de la equivalencia sustancial, cuyo enfoque más común ha sido comparar la línea transgénica con su versión isogénica sin el transgén, mediante el análisis de la composición, con el fin de identificar diferencias potenciales en los niveles de cada uno de los componentes nutricionales; si no se encuentran diferencias significativas o estas están dentro de la variación natural esperada, o dentro de rangos reportados en la literatura para cada componente, los resultados de esta evaluación son presentados como parte fundamental de los requisitos solicitados por las autoridades regulatorias para la solicitud del consumo por seres humanos y animales de un cultivo transgénico (OECD, 2004). Hasta la fecha este concepto ha demostrado ser exitoso, ya que después de dos décadas del uso de los cultivos transgénicos, y su adopción en el comercio mundial de alimentos y piensos, no se ha encontrado ningún

caso de efectos perjudiciales en seres humanos o animales (Brookes & Barfoot, 2018). La evidencia ha demostrado que los efectos del transgén en las plantas tienden a ser pequeños, con la excepción de los casetes de expresión diseñados para modificar algún componente nutricional (Novak & Haslberger, 2000; Herman, 2013). Muchos países realizan una extensa evaluación de la seguridad de los cultivos GM antes de autorizar su liberación comercial para cultivo, así como para importación de alimentos y piensos (König *et al.*, 2004; Price & Underhill 2013). Aunque existen diferencias de procedimiento entre países, el consenso general entre las autoridades reguladoras es que la evaluación de seguridad de los organismos modificados genéticamente (OGM) se puede lograr bajo el concepto de equivalencia sustancial (OECD, 1993; FAO/OMS, 1996; Codex Alimentarius, 2003).

El gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) es una de las plagas más comunes del maíz, ha sido la responsable de grandes pérdidas económicas en Colombia (ICA, 2008), la introducción de genes de resistencia a insectos en genotipos de maíz colombianos es una alternativa potencial para el control de esta plaga. Con este objetivo, el Programa de Mejoramiento Genético de Maíz del Centro Nacional de Investigaciones de Cereales y Leguminosas (CENICEL) de la Federación Nacional de Cultivadores de Cereales y Leguminosas (FENALCE) con el apoyo del grupo de investigación de Ingeniería Genética de Plantas de la Universidad Nacional de Colombia (IGP-UN) mediante el método de retro cruzamiento de líneas elite de maíz colombianas cruzadas con el maíz HERCULEX® I (maíz transgénico evento TC1507), asistidos por pruebas de campo complementarias y ensayos de inmunotrips (Jiménez, *et al.*, 2016), obtuvieron líneas elite de maíz de los genotipos colombianos con el evento TC1507 (*cry1f* y *pat*), posteriormente se hibridaron las líneas elite con el evento introgresado, obteniendo un híbrido de maíz *off patent* del evento TC1507 producto de las mejores combinaciones híbridas del programa de fitomejoramiento (Jiménez, *et al.*, 2016). El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) mediante resolución 13025 del 26 de agosto de 2019 autorizo a FENALCE siembras comerciales de los genotipos de maíz que contengan el evento TC1507 en las subregiones naturales Caribe húmedo, Caribe seco, Valle geográfico del río Cauca, Valle geográfico del río Magdalena, Orinoquia y área Cafetera con altitud entre 1200 y 1800 msnm. Esta es la primera autorización en el mundo, para siembras

comerciales de cultivares de maíz transgénico desarrollado con base en tecnologías que están en dominio público.

El propósito de este trabajo fue realizar el análisis de la equivalencia sustancial, a partir de la comparación de los niveles de los componentes nutricionales de los analitos proximales en los tejidos de grano y forraje de los genotipos *off patent* de plantas de maíz transgénicas, evaluando su equivalencia a los de los genotipos de maíz convencional del que se derivan. Se determinó que los genotipos transgénicos de maíz *off patent* (híbrido y líneas elites) desarrollados por FENALCE e IGP son equivalentes sustancialmente a los genotipos de maíz convencional de la cual derivan (isolíneas elite), constituyendo la evidencia parcial, junto con la revisión de análisis de equivalencia del evento TC1507, los soportes para sustentar y solicitar ante las instituciones regulatorias nacionales, INVIMA e ICA, la autorización para consumo para seres humanos y animales en Colombia.

Del producto de este trabajo se espera que beneficie a los agricultores de maíz, que tendrán la posibilidad de acceder a semillas *off patent* de maíz que son resistentes a insectos y tolerantes al herbicida glufosinato de amonio. Potencialmente puede ser una guía para afrontar los desafíos legales y regulatorios para la liberación comercial de cultivos *off patent* en Colombia, viéndose beneficiadas instituciones públicas y empresas privadas de semillas que quieran desarrollar cultivos *off patent* en Colombia, y otros países cuya regulación en materia de organismos genéticamente modificados sea similar.

2 Justificación

Antes de la comercialización, un nuevo cultivo transgénico se somete a una serie de evaluaciones de bioseguridad. El proceso comparativo de la evaluación de la inocuidad de un alimento o alimento derivado de cultivos GM se basa en el concepto de que existe una "certeza razonable de que no hay peligro" debido a su uso previo (FAO/OMS, 1996). Este proceso compara las características fenotípicas y principalmente de la composición nutricional del cultivo transgénico con el de su cultivo homólogo convencional que tiene un historial de uso seguro y se denomina "equivalencia sustancial" (FAO, 2000). El análisis de la equivalencia sustancial debe tener en cuenta, la existencia de un comparador pertinente (variedad de la cual deriva la planta transgénica), se deben identificar en cada caso los parámetros pertinentes propios de la planta que serán comparados y por último, la variabilidad inherente de la mayor parte de los parámetros que se miden en los sistemas biológicos puede dificultar la interpretación del significado de los cambios observados, por lo que se debe tener en cuenta la variación de los parámetros que se van a comparar (FAO, 2010). Las evaluaciones de composición siguen las pautas aceptadas globalmente y esbozadas en documentos de consenso de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE, 2001). El consenso de la OCDE enfatiza las comparaciones directas entre el nuevo cultivo mejorado biotecnológicamente y un control casi isogénico para identificar diferencias potenciales en los niveles de componentes clave de nutrientes y antinutrientes, tal como lo evidencian otros estudios (Cheng et al., 2008; Harrigan, et al., 2010). En contraste con el desarrollo

de productos genéricos en las industrias farmacéutica y agroquímica, los actuales marcos regulatorios sobre los cultivos transgénicos de cada país tienen un desafío a la hora de establecer una política regulatoria para la siembra, liberación comercial y uso como alimento para seres humanos y animales de los cultivos *off patent*, cuyos eventos han sido previamente autorizados.

3 Objetivos

3.1 Objetivo general

- Determinar la equivalencia sustancial del maíz *off patent* (evento TC1507), híbrido y líneas elites transgénicas, con respecto a su isolínea homóloga convencional

3.2 Objetivos específicos

- Realizar una revisión de literatura a profundidad de los diferentes ensayos de campo con lo que se ha sustentado la equivalencia sustancial del evento de maíz transgénico TC1507 ante las autoridades regulatorias.
- Determinar la equivalencia sustancial a partir de los resultados de cada uno de los analitos cuantificados para las muestras de grano y forraje de maíz de cada uno de los genotipos.
- Determinar la equivalencia sustancial a partir de la combinación de los datos de los analitos de todas las réplicas para grano y para forraje de cada uno de los genotipos.

4 Planteamiento del problema

El gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) es una de las plagas más comunes del maíz, ha sido la responsable de pérdidas económicas en Colombia (ICA, 2008), la introducción de genes de resistencia a insectos en genotipos de maíz colombianos es una alternativa potencial para el control de esta plaga. Con este objetivo el Programa de Mejoramiento Genético de Maíz CENICEL-FENALCE con el apoyo IGP - UN mediante el método de retrocruzamiento de líneas elite de maíz colombianas cruzadas con el maíz evento TC1507), asistidos por pruebas de campo complementarias y ensayos de *inmunostrips*, obtuvieron líneas elite de maíz de los genotipos colombianos con el evento TC1507 (*cry1f* y *pat*), posteriormente se hibridaron con líneas elite, obteniendo un híbrido de maíz *off patent* del evento TC1507 producto de las mejores combinaciones híbridas del programa de fitomejoramiento (Jiménez, *et al.*, 2016). Un paso esencial dentro del desarrollo de una planta modificada genéticamente con fines comerciales es la evaluación de su seguridad, por lo que se somete a una rigurosa evaluación para garantizar que no se produzcan cambios biológicamente relevantes, intencionados o no intencionales en sus nutrientes, anti nutrientes, toxinas y alérgenos (Goodman, 2014). Garantizar la equivalencia sustancial del maíz *off patent* (evento TC1507) es de suma importancia para cumplir con los requisitos necesarios para obtener la autorización para consumo humano y animal de cultivos transgénicos, es regulada por el decreto 4525 de 2005, que reglamenta la ley 740 de 2002 sobre el “Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica”. La equivalencia sustancial significa que un nuevo producto, como un cultivo modificado genéticamente, debe ser el mismo que el cultivo no modificado genéticamente, con

excepción de los rasgos que fueron mejorados, agregados o eliminados mediante ingeniería genética (FAO/OMS, 1996). El concepto de equivalencia sustancial dentro de la evaluación de la inocuidad de las plantas modificadas genéticamente fue formulado por primera vez por la OCDE en 1993. Desde entonces, varias instituciones respaldaron este concepto como un punto de partida clave para la evaluación de la inocuidad. No es un criterio cuantitativo o un obstáculo, sino un marco para la toma de decisiones por parte de las autoridades regulatorias (OCDE, 2004): los expertos establecieron que la equivalencia sustancial no es en sí mismo una evaluación de la inocuidad, puesto que no caracteriza los peligros, pero estructura el análisis de las características y la composición de los alimentos obtenidos de plantas de ADN recombinante (transgénicos). Es un concepto flexible, ya que es un instrumento que ayuda a identificar cualquier diferencia, intencional o no, que podría ser objeto de una evaluación posterior de la inocuidad (FAO/OMS, 2000).

5 El concepto de equivalencia sustancial

El proceso comparativo de la evaluación de la inocuidad de un cultivo o un alimento derivado de cultivos GM se basa en el concepto de que existe una "certeza razonable de que no hay peligro" debido a su uso previo (FAO/OMS, 1996). Este proceso compara las características fenotípicas y la composición del cultivo GM con el de su cultivo homólogo convencional que tiene un historial de uso seguro (FAO, 2000). El proceso se conoce como el análisis de la equivalencia sustancial, la investigación resultante de la comparación de la composición nutricional entre los cultivos GM y los comparadores no transgénicos ha sido parte fundamental de la evaluación de la seguridad de los cultivos transgénicos desde que se sugirió este enfoque por primera vez en 1993 (OECD, 1993), este ha sido utilizado por muchas autoridades reguladoras y de inocuidad alimentaria en todo el mundo. Más allá de esta comparación composicional que está diseñada para investigar los posibles efectos potenciales no deseados producto de la ingeniería genética al introducir una construcción genética (casete de expresión) en una planta cultivada mediante la transgénesis, se realizan evaluaciones de seguridad complementarias que incluyen el rendimiento agronómico del cultivo, la integridad del gen introducido, el potencial tóxico y alergénico de la proteína expresada y los efectos no deseados debido a la inserción del gen (FAO, 2000). Tanto el ADN como el ARN no se consideran como moléculas que presenten un riesgo para la seguridad alimentaria y, por tanto, la evaluación de la seguridad de los efectos previstos se centra en la evaluación de los productos génicos previstos (normalmente las expresadas proteínas), la investigación de los riesgos no previstos para la seguridad alimentaria de los cultivos GM ha consistido principalmente en la investigación de los posibles efectos relacionados con la composición de los cultivos (Parrot *et al.*, 2010). Muchos países realizan una extensa evaluación de la seguridad de los cultivos GM antes de autorizar su liberación comercial, así como para importación de alimentos y piensos derivados de

cultivos GM (König *et al.*, 2004; Price & Underhill 2013). Aunque existen diferencias de procedimiento entre países, el consenso general entre las autoridades reguladoras es que la evaluación de seguridad de los organismos modificados genéticamente (OGM) se puede lograr bajo el concepto de equivalencia sustancial (OCDE, 1993; FAO/OMS, 1996; Codex Alimentarius, 2003).

5.1 Metodologías analíticas

Se requiere la evidencia caso por caso de las evaluaciones de bioseguridad para cualquier nuevo cultivo GM que se quiera liberar comercialmente. Para realizar la evaluación de la equivalencia sustancial, el método de prueba más común ha sido comparar la línea transgénica con su versión isogénica más cercana, es decir, la misma línea sin el transgén. Los estudios han demostrado que, para los eventos GM de uso generalizado (tolerancia a herbicidas, resistencia a insectos o eventos apilados), los efectos del transgén en la planta tienden a ser pequeños, con la excepción de los parámetros relacionados con el rasgo introducido por medio de la ingeniería genética. De hecho, las pruebas realizadas durante varios años en múltiples localidades han demostrado que los efectos ambientales en la variación metabólica general dentro de una línea en particular pueden ser mucho mayores, que la variación debida al evento GM en sí mismo (Baker *et al.*, 200; Harrigan *et al.*, 2010; Cheng *et al.*, 2008). En la práctica, las líneas de cultivos comerciales convencionales se han mejorado individualmente estando adaptadas a una amplia variedad de ubicaciones y entornos, y una sola línea GM con un rasgo de tolerancia a herbicidas o de resistencia a insectos no sería económicamente viable fuera de la región agronómica óptima para la cual está adaptado un genotipo en particular. Como resultado, el transgén se debe introducir en una amplia gama de genotipos convencionales y, por lo tanto, es importante considerar la variación de cultivos GM dentro del contexto de toda la gama de expresión de germoplasma.

El enfoque más utilizado para evaluar la equivalencia sustancial de un cultivo GM y los comparadores no transgénicos, ha sido diseñar ensayos de campo replicados a lo largo de las diferentes regiones donde se cultivarán las plantas GM y recoger

muestras de tejidos vegetales que se utilizan como alimento y pienso (por ejemplo, los dos tejidos más comunes son el grano y el forraje). Los datos recogidos en estos ensayos de campo incluyen al cultivo GM, una línea no GM casi isogénica y, a veces, una o más líneas comerciales de referencia no GM. En el caso de los rasgos introducidos de tolerancia a los herbicidas, la línea transgénica se incluye a menudo como datos múltiples en las que ciertas parcelas se tratan con el herbicida al que el cultivo tiene tolerancia y también en parcelas en las que no se rocía con el herbicida. Las muestras provenientes de los tejidos vegetales se analizan en busca de una serie de nutrientes y anti nutrientes (normalmente entre 50 y 80 analitos son evaluados), y se realizan comparaciones estadísticas de los datos entre el cultivo GM y el comparador no GM. Cuando se observan diferencias estadísticamente significativas, los niveles medios de los analitos en cuestión se comparan con el rango de los niveles que se consideran normales para el cultivo en su conjunto reportados en la literatura (FAO/OMS, 1996; Jonas *et al.*, 1996; OCDE, 1993, 1996, 1997). Si los niveles de los analitos quedan fuera de estos rangos, se evalúa la relevancia biológica de los cambios en la composición, considerando si los niveles observados serían inseguros en el contexto de cómo se produce y consume el cultivo (Herman *et al.*, 2010).

Se ha utilizado una amplia variedad de métodos en la evaluación de la equivalencia sustancial de los cultivos GM para cumplir con las evaluaciones de seguridad solicitadas por las agencias reguladoras. Los enfoques más comunes desde la primera década de la regulación de cultivos transgénicos hasta hoy, incluyeron un extenso análisis compositivo para características tales como la digestibilidad (en el caso de la alimentación animal), y de una gran cantidad de analitos que incluyen proximales (proteínas, grasas, cenizas, hidratos de carbono y humedad), fibra, minerales, aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas, anti nutrientes, alérgenos endógenos y metabolitos secundarios (OCDE, 2001a,b, 2002, 2004a,b). Se han publicado múltiples estudios que comparan la composición de varios cultivos transgénicos con sus homólogos convencionales. Los resultados destacan que los comparadores GM y los no GM tienen una composición similar (ILSI, 2020; Noushahi & Hussain, 2020). También se han desarrollado bases de datos composicionales de los principales cultivos mundiales (Ridley *et al.*, 2004), estas han sido usadas para establecer la equivalencia de cultivos que expresan proteínas transgénicas que confieren tolerancia a los herbicidas o resistencia a los insectos. En algunos casos

donde la composición ha sido el objetivo de la modificación genética, puede ser más relevante comparar la composición con cultivos no transgénicos que contengan perfiles composicionales similares, en lugar de compararlos con la variedad parental o casi isogénica. Por ejemplo, en el análisis de equivalencia sustancial la canola GM modificada para mejorar la composición de ácidos grasos mono insaturados fue más apropiado usar como comparador el aceite de oliva que el aceite de canola convencional (Chassy *et al.*, 2004).

A medida que las tecnologías analíticas avanzaban, se fue expandiendo el repertorio de análisis para incluir nuevas técnicas como el grupo de tecnologías denominadas colectivamente como "ómicas" (proteómica, metabolómica y transcriptómica). Se han producido varias investigaciones en las que involucran estas nuevas metodologías para evaluar la equivalencia sustancial de cultivos GM, algunas de ellas han usado una o varias de estas: como la proteómica (Ricroch *et al.*, 2011), finger prints de metabolitos basados en RMN (Muccilli *et al.*, 2020), análisis de metabolitos por HPLC o GC/MS (Baker *et al.*, 2006, Beale *et al.*, 2008), y perfil global de la expresión génica (Fu *et al.*, 2021), demostrando que son herramientas útiles para la investigación, con la idea de que dichos análisis podrían dar una idea de efectos farmacotrópicos impredecibles y las consecuencias potencialmente perjudiciales de la expresión de transgenes; sin embargo, la aplicación de estas tecnologías como parte de la evaluación de la seguridad de los cultivos GM es incipiente, ya que los datos de referencia sobre la variación normal inherente a los proteomas, metabolomas y transcriptomas de las plantas de las variedades convencionales son escasos (Harrigan *et al.*, 2007, Fu *et al.*, 2021). Se ha observado que la geografía o sitios de las unidades experimentales, las condiciones ambientales y el año de cultivo pueden producir importantes diferencias en la composición, el análisis "ómico" aún no puede considerarse una herramienta de evaluación de la composición hasta que se disponga de bases de datos sólidas que cataloguen la variación natural a partir de datos de múltiples variedades cultivadas en varios sitios alrededor del mundo. Los análisis metabolómicos tienen la limitación de no proporcionar información cuantitativa y que sólo pueden describir un subconjunto del metaboloma, a menudo sin identificar metabolitos específicos a menos que el análisis dirigido siga a la etapa de perfilado (Harrigan *et al.*, 2007; Fiehn *et al.*, 2008). Adicionalmente tampoco hay pruebas de que el actual paradigma de evaluación de la seguridad sea inadecuado, por lo tanto, es de esperar que los actuales métodos de análisis composicional

seguirán siendo la base del análisis de equivalencia sustancial en el futuro próximo (Noushahi & Hussain, 2020).

5.2 Consideraciones en la evaluación de la equivalencia sustancial

Un cultivo GM se compara con su aislónnea no GM convencional y con otros cultivos no GM convencionales en términos de las características agronómicas, fenotípicas y de composición de puntos finales. Establecer una equivalencia sustancial implica evaluar las diferencias dentro del contexto de la variación natural de los cultivos convencionales. La equivalencia se define en este contexto como la ausencia de diferencias distintas a la variación biológica natural y distintas a las diferencias esperadas debido a las modificaciones genéticas previstas. Para cada punto final elegido, o para grupos de puntos finales, se deben determinar los valores límite para los cuales la diferencia es aceptable. Estos son conocidos como límites de equivalencia: si se han establecido como desviaciones relativas con respecto a la aislónnea convencional, el resultado de la prueba establecerá la equivalencia entre el cultivo GM y su aislónnea. Si, los límites de equivalencia se han establecido como una desviación relativa de la media de las variedades comerciales no GM, el resultado de la prueba establecerá la equivalencia entre el cultivo GM y el conjunto de variedades comerciales (Codex Alimentarius. 2003).

La metodología estadística no debe centrarse solamente en hallar las diferencias o equivalencias, ya que las diferencias estadísticamente significativas pueden indicar un cambio biológico causado por la modificación genética, pero puede no ser relevante desde el punto de vista de la inocuidad de los alimentos (Perry *et al.*, 2003). El análisis de la equivalencia puede identificar diferencias potencialmente mayores que la variación natural normal, siendo o no, casos en los que probablemente exista un cambio biológico causado por la modificación genética. Por lo tanto la metodología estadística debe ser flexible ya que una prueba completa de la equivalencia necesitaría analizar todos los puntos finales simultáneamente (equivalencia sustancial global), y dicha prueba resulta ser técnicamente difícil y costosa de realizar (Padgett *et al.*, 1996; Walters, 2008).

Las pruebas de equivalencia están diseñadas para probar la hipótesis de igualdad entre un cultivo GM y su isolínea convencional, aunque no es posible probar una igualdad estricta global. Por el contrario, los experimentos biológicos están diseñados para revelar y cuantificar las diferencias entre variedades y sus controles. En las pruebas de diferencias, se parte que la hipótesis nula es la igualdad entre el cultivo GM y el no GM, por lo tanto, no encontrar una diferencia real es un error tipo II (si la hipótesis nula no se rechaza, aunque en realidad no sea cierta), mientras la existencia de una diferencia de una magnitud dada, y aunque la prueba global de equivalencia concluye que en realidad no existe tal diferencia es un error tipo I (si la hipótesis nula se rechaza erróneamente cuando en realidad es verdadera). La tasa de error de Tipo I (α) o tamaño de la prueba, se establece en $\alpha = 0.05$. considerada aceptable en la evaluación de riesgos. Sin embargo, en las evaluaciones de seguridad se mantiene la hipótesis tradicional de que la diferencia es nula, el error de tipo II (aceptar que los cultivos GM y la isolínea convencional producen respuestas iguales cuando en realidad hay una diferencia) es el más grave y relevante. En experimentos mal diseñados o con replicas inadecuadas, aunque utilicen $\alpha = 0.05$ tienen un error tipo II grande que no les permitirá discriminar entre el cultivo GM y su isolínea dando así una falsa evaluación de la seguridad mientras en realidad el experimento no fue lo suficientemente sensible para detectar las diferencias. Así, entre mayor sea la potencia estadística el experimento sera mas recomendable, ya que esta es la probabilidad de detectar una diferencia entre el cultivo GM y su contraparte convencional, que depende del diseño experimental, de la magnitud de las diferencias de la variedad, de la variabilidad de referencia de las unidades experimentales, del tamaño del ensayo y de las réplicas del experimento (Tempelman, 2004).

Las pruebas de hipótesis se pueden realizar de forma aislada, para rechazar o no una hipótesis nula, o se pueden realizar después de la construcción de los intervalos de confianza que dan una descripción detallada de la magnitud de la diferencia entre el cultivo GM y su isolínea convencional, así como la incertidumbre acerca de esta diferencia. Solo se debe construir un intervalo de confianza para probar las hipótesis de diferencia y de equivalencia, y su construcción es posible aún en ausencia de valores de hipótesis nulos claramente definidos, por ejemplo, en ausencia de límites de equivalencia (Newman, 2008).

Los experimentos de campo deben tener múltiples replicas por cada sitio. En cada sitio en donde se realizará cada prueba de campo con las variedades aleatorias sobre parcelas en bloques múltiples o repeticiones. El análisis estadístico de los datos de los experimentos para la evaluación comparativa se centra en estudiar las diferencias promedio y la equivalencia promedio similar a las pruebas de medicamentos (Wellek, 2002), permitiendo verificar además los posibles efectos específicos del sitio, es decir, la interacción genotipo por sitio, por lo tanto, cada prueba por sitio individual debe tener varias réplicas para el análisis (Anon, 2007; Spilke *et al.*, 2005).

La elección del número de repeticiones se relaciona con el número de variedades y los grados de libertad del error resultantes en un análisis simple en un solo sitio para una prueba de diferencia donde se supone que todos los factores tienen efectos fijos. El enfoque se basa en la idea de que el número de grados de libertad (gl) del error puede proporcionar un criterio razonable para la elección del número de repeticiones por sitio. Por ejemplo, en un experimento con 8 variedades y 4 réplicas con un diseño de bloques al azar, hay 21 gl residuales. Estos se calculan como: gl total ($32 - 1 = 31$) menos variedad gl ($8 - 1 = 7$) menos gl bloques ($4 - 1 = 3$), es decir $31 - 7 - 3 = 21$. Con solo 4 variedades y 4 Réplicas, la cifra correspondiente es $15 - 3 - 3 = 9$. Los gl residual debe aumentarse aumentando la replicación; a menudo esto implicará el uso de bloques adicionales en un experimento de bloques al azar. La cantidad de gl residual deseable depende de las preguntas formuladas, la forma de los datos, el grado de precisión o potencia requerido del ensayo, no se dispone de datos suficientes ni estudios teóricos que permitan hacer recomendaciones que sean estadísticamente óptimas en el sentido estricto del término. Los diseños óptimos para modelos mixtos lineales son un problema abierto, la elección del diseño experimental influye en el número de gl residual. El diseño completamente aleatorizado da el número máximo de gl. El diseño de bloques aleatorizado utiliza algunos de estos gl para permitir la heterogeneidad del entorno, como en un gradiente. El diseño del cuadrado latino utiliza aún más, para dar cuenta de la heterogeneidad a lo largo de dos gradientes. El diseño de parcelas divididas utiliza gl para permitir las posibles fuentes de más de un componente de variación. Los diseños de bloques incompletos se utilizan cuando el número de variedades en un bloque es tan grande que la homogeneidad de la varianza de la parcela puede verse comprometida. Cualquiera

que sea el diseño, el concepto de asignación al azar es crucial para garantizar una base adecuada para la estimación de la variabilidad. En particular, las variedades comerciales deben ser aleatorizadas de la misma manera que las plantas GM y su (s) comparador (es) (Hothorn & Oberdoerfer, 2006).

La información sobre la variabilidad entre variedades comerciales es importante para el establecimiento de los límites de equivalencia. Se deben incluir variedades comerciales completamente aleatorias dentro de cada conjunto de ensayos de campo, además de la planta GM y su contraparte convencional. No hay información suficiente sobre la cual basar una determinación del número estadísticamente óptimo de variedades comerciales por ensayo, es decir, por sitio en un experimento de sitios múltiples. Es necesario que las variedades sean representativas de los sitios en los que se cultivan, y dado que los sitios dentro de los ensayos tienen la intención de representar la gama completa de ambientes receptores, es probable que se usen diferentes variedades en diferentes ensayos, las variedades comerciales deben proporcionar una base mínima práctica para estimar la variabilidad que ayudará a establecerlos límites de equivalencia (Oberdoerfer *et al.*, 2005).

6 Materiales y Métodos

6.1 Revisión del maíz transgénico TC1507

Se realizó una revisión electrónica a partir de artículos científicos en revistas indexadas y en bases de datos de documentos regulatorios de acceso público, destacando la base de datos del Instituto Colombiano Agrícola (ICA) y del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) sobre documentos, resoluciones, acuerdos de transferencia de materiales, acuerdos de confidencialidad, convenios interinstitucionales relacionados a los análisis de equivalencia sustancial con los que se sustentaron las evaluaciones de seguridad con la que se dio la aprobación comercial del evento de maíz transgénico TC1507 y eventos apilados que lo contuvieran, en Colombia y en otros países (Diagrama 1).

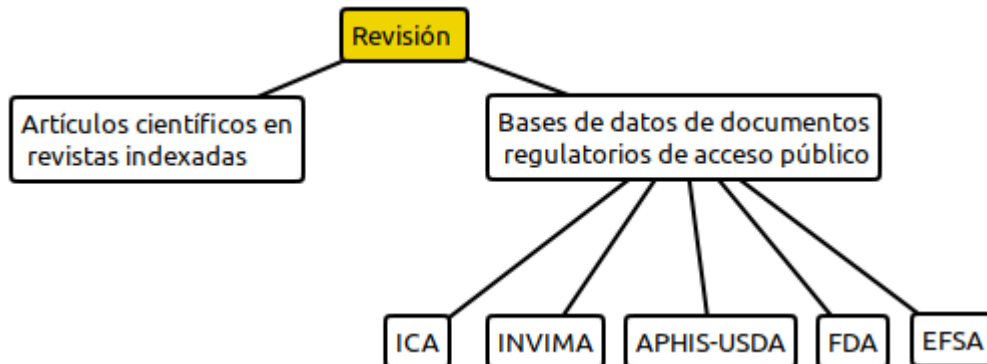


Diagrama 1. Diagrama de flujo de la revisión del maíz transgénico TC1507

6.2 Ensayo de campo

Se realizó un ensayo de campo para analizar la equivalencia sustancial a partir de los analitos proximales de maíces cultivados en Paraguaicito, municipio de Buenavista (Quindío), localidad que correspondiente a la subregión natural del área cafetera. El diseño de la siembra consistió en un diseño de bloques al azar, con tres repeticiones

por bloque, plantándose semillas de 6 genotipos: dos líneas elite *off patent*, dos isolíneas elites convencionales, un híbrido *off patent* (línea elite convencional X línea elite *off patent*), y un híbrido convencional sembrado en la localidad. De cada uno de los genotipos se recolectaron tres muestras de dos tipos de tejidos: 1. las muestras del grano de maíz en su estado de madurez (fase R6) y 2. las muestras de hojas en el mismo estadio. Las muestras se conservaron en hielo seco hasta ser transportadas al laboratorio donde cuantificaron cada uno de los analitos mediante los siguientes métodos: materia seca: pérdida por secado (humedad) para piensos. Materia seca en horno de secado para piensos (a 135 ° C durante 2 horas), método oficial AOAC 930.15; proteína: proteína(total) en alimentos para animales, método de combustión, método oficial AOAC 990.03, cálculo de proteína $n \times 6.25$; grasa: alimentos para animales. Determinación del contenido de grasa - categoría A, NTC 4969 (2001-10-16); fibra cruda: alimentos para animales. Determinación del contenido de fibra cruda. Método con filtrado Intermedio, NTC 5122 (2002-11-22); cenizas: ceniza en alimento para animales, método oficial AOAC 942.05; y carbohidratos por calculo (Diagrama 2).

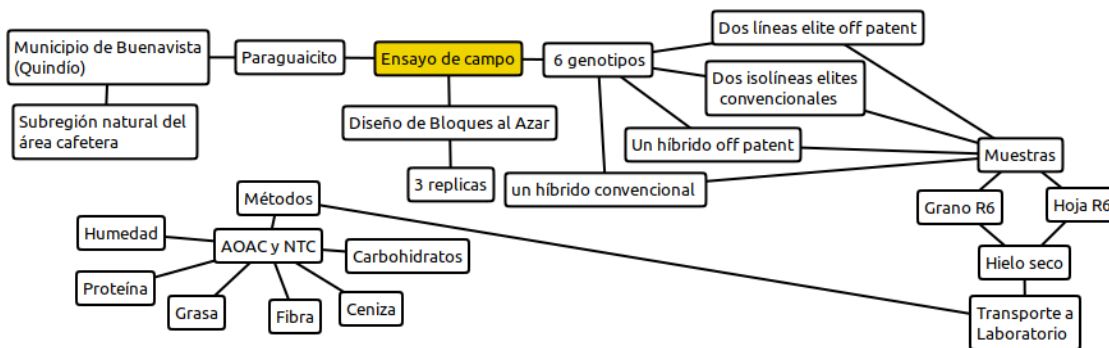


Diagrama 2. Diagrama de flujo del ensayo de campo

6.3 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos de los datos de composición de nutrientes se realizaron mediante el software R versión 4.0.2 con la IDE Rstudio 1.1.463. Para realizar los análisis estadísticos se hicieron 4 funciones, la primera (y base de las demás funciones) permite la generación de una base de datos para el análisis gráfico y los test estadísticos de diferencias, una segunda función que realiza un análisis

exploratorio de datos y obtiene un diagrama de cajas y bigotes resultado de cada analito por genotipo, una tercera función que permite seleccionar cada analito y establecer los intervalos de confianza reportados en la literatura para cada uno de estos, y una cuarta función que realizar los test de diferencia entre los genotipos de acuerdo a cada analito analizado. Dentro de las pruebas estadísticas realizadas están el test de Shapiro–Wilk para normalidad, el Test de Levene para homocedasticidad y el test de Kruskall-Wallis de diferencias entre grupos y su respectivo post-hoc el test de Wilcoxon (Mann-Whitney test). Se realizaron dos análisis estadísticos separados de los datos de composicionales. Para el primer análisis estadístico, de los resultados obtenidos se evaluaron los datos de las 3 réplicas de cada uno de los analitos de grano y forraje de maíz aplicando el test de Kruskall-Wallis para identificar diferencias estadísticamente significativas (con un $\alpha=0.05$) entre los genotipos y su respectivo post-hoc el test de Wilcoxon para la corrección del nivel de la significancia para evitar incrementar el error tipo 1 y para identificar las diferencias significativas entre cada uno de los genotipos ($\alpha=0.05$). En el segundo, se analizaron la combinación de los datos de todas las réplicas para grano y para forraje de cada uno de los genotipos. Aplicando el test de Kruskall-Wallis para identificar diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.05$) entre los genotipos y su respectivo post-hoc el test de Wilcoxon para la corrección del nivel de la significancia para evitar incrementar el error tipo 1 y para identificar las diferencias significativas entre cada uno de los genotipos ($\alpha=0.05$), (Diagrama 3).

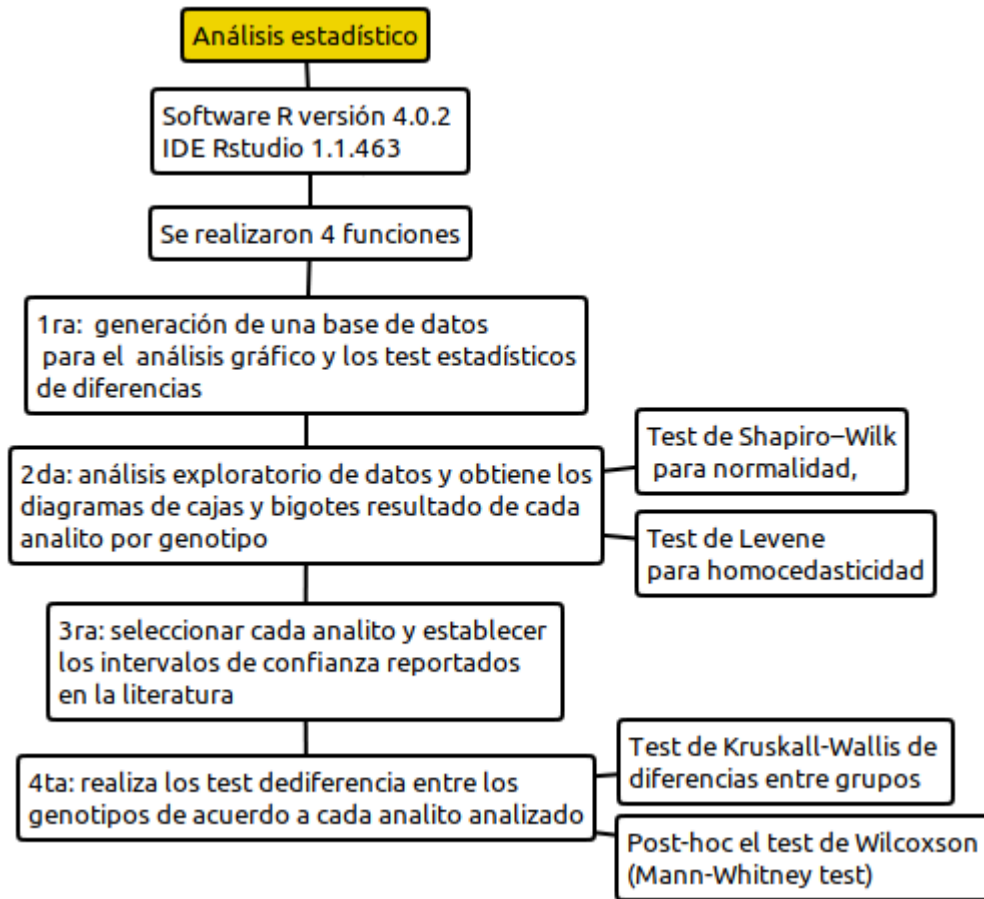


Diagrama 3. Diagrama de flujo del análisis estadístico

7 Resultados y discusión

7.1 Revisión del análisis de la equivalencia sustancial del maíz TC 1507

7.1.1 Evento TC 1507

El evento TC1507 se desarrolló mediante la transformación de la línea de maíz Hi-II a través del método de bombardeo de micro proyectiles, que portaban el plásmido PHI8999A, el cual fue obtenido por la digestión del plásmido PHI8999 con la enzima de restricción Pmel para la introducción de los genes *cry1F* y *pat* (los componentes regulatorios necesarios para su expresión), estos genes codifican las proteínas Cry1F y PAT (fosfinotricina-N-acetiltransferasa) respectivamente, que otorgan a la línea de maíz 1507 resistencia a insectos lepidópteros y tolerancia al herbicida glufosinato de amonio (USDA APHIS, 2000; OECD, 1999, 2002). El gen *cry1F* tiene el promotor de la Ubiquitina del maíz (*ubiZM1*) y el terminador de la señal de polyadenilación de *Agrobacterium tumefaciens* (ORF25PolyA). A su vez, el gen *pat* tiene la secuencia promotora y la secuencia terminadora 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV35S PRO y CaMV35S TERM, respectivamente) (USDA APHIS, 2001). Para evaluar la efectividad de la transformación, definieron la tolerancia al glufosinato como parámetro de selección, dado por el gen *pat*. Adicionalmente, el plásmido posee el gen tipo II de la Neomicina-fosfotrasferasa (*nptII*) que confiere resistencia a la kanamicina, éste gen está bajo el control de promotores de bacteria que no se expresan en plantas (USDA APHIS, 2001, Baktavachalam, *et al.*, 2015).

7.1.2 Ensayos de campo: diseño experimental y análisis estadístico

Los desarrolladores presentaron los datos sobre la composición del material de semillas y forraje recogidos en ensayos de campo realizados en Chile en 1998/99, en Francia e Italia en 1999, y en Francia, Italia y Bulgaria en el 2000 (EFSA, 2004,

2004a; USDA APHIS, 2000). Además, evaluaron las características agronómicas y el rendimiento del maíz 1507 en ensayos de campo realizados en los Estados Unidos en 1999, en Francia, Italia y Bulgaria en el 2000 y en España en el 2002 (EFSA, 2005; FSANZ, 2001, 2002)

Ensayos de campo en Chile (1998/99)

Los datos de composición los obtuvieron en los ensayos de campo realizados en cuatro localidades de las principales regiones del cultivo del maíz en Chile, durante la temporada de cultivo 1998/1999. Según los desarrolladores, estos sitios son comparables con las regiones de América del Norte y Europa adecuadas para la producción comercial de maíz (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017).

Establecieron parcelas en cada una de las localidades en un diseño de bloques completos al azar con seis réplicas. Recogieron muestras de tejido vegetal de dos líneas de prueba; una línea híbrida derivada del maíz 1507 y una línea endocriada derivada de la línea 1507. En los ensayos incluyeron como controles convencionales dos líneas correspondientes casi isogénicas y no transgénicas designadas como híbrida AM y endocriada AM. No incluyeron variedades de referencia comercial en estos ensayos de campo (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001).

Todas las plantas transgénicas del ensayo las asperjaron con el herbicida glufosinato de amonio aproximadamente en la etapa de desarrollo V5-V6, mientras que las plantas de control (no transgénicas) las asperjaron con herbicidas convencionales. Todas las líneas de maíz de cada uno de los ensayos las cultivaron en condiciones agronómicas normales para sus respectivas regiones geográficas (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2002; VKM, 2017).

Ensayos de campo en Francia e Italia (1999)

En 1999 obtuvieron los datos de composición del maíz de seis localidades de Francia e Italia. El estudio lo llevaron a cabo en tres localidades de Francia y en tres localidades de Italia, situadas en las principales regiones de cultivo de maíz de la Unión Europea (EFSA, 2004, 2004a). En Francia, los ensayos comprendieron seis réplicas de maíz 1507 no asperjado con glufosinato de amonio, y líneas de maíz no transgénico de control isogénicas (EFSA, 2004, 2004a). En cada localidad de Italia, los ensayos comprendieron tres réplicas de la línea de prueba 1507 asperjada con glufosinato de amonio, línea de maíz 1507 no asperjado con glufosinato de amonio, y el maíz no transgénico de control isogénico (EFSA, 2004, 2004a).

Ensayos de campo en Francia, Italia y Bulgaria (2000)

Durante el período de cultivo del año 2000 llevaron a cabo ensayos de campo adicionales en las regiones de Europa donde se cultiva maíz comercialmente, para un total de seis localidades, de las cuales tres se encontraban en Francia, dos en Italia y una en Bulgaria (EFSA, 2005; FSANZ, 2001, 2002). Evaluaron la composición nutricional del maíz 1507 asperjado con glufosinato de amonio y del maíz 1507 no asperjado con glufosinato de amonio, comparado con el maíz no transgénico isogénico. En cada localidad había tres réplicas de maíz 1507 asperjado con glufosinato de amonio, maíz 1507 no asperjado con glufosinato de amonio y maíz no transgénico isogénico tratado con herbicidas convencionales comúnmente utilizados en el cultivo del maíz (EFSA, 2005; FSANZ, 2001, 2002).

Análisis estadístico

Recogieron muestras de forraje del maíz 1507 y del maíz no transgénico de control y los analizaron en función de cuantificar la proteína total, la grasa total, la ceniza, la fibra total, la fibra de detergente ácido (ADF), la fibra de detergente neutro (NDF), los carbohidratos totales y los minerales (calcio y fósforo) (USDA APHIS, 2000, 2001; EFSA, 2004, 2004a, 2005).

Recogieron muestras del grano de maíz 1507 y de maíz no transgénico de control y los analizaron para determinar la composición de nutrientes, incluyendo: proteína

total, grasa total, fibra total, fibra de detergente ácido, fibra de detergente neutro, cenizas, carbohidratos totales, perfil de ácidos grasos, perfil de aminoácidos, minerales, vitaminas, metabolitos secundarios y anti nutrientes. La cuantificación de cada uno de los analitos fue realizada por Woodson-Tenent Laboratories de acuerdo a los métodos estandarizados por la Association of Official Analytical Chemists (AOAC). El análisis estadístico de las características agronómicas y los datos de composición de nutrientes lo realizaron mediante el software S.A.S. Versión 8.2 para generar el análisis de varianza (ANOVA), medias y desviaciones estándar (USDA APHIS, 2000, 2001; EFSA, 2004, 2004a, 2005; Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017).

Realizaron dos análisis estadísticos separados de los datos de composicionales. Para el primer análisis evaluaron la combinación de los datos de todas las réplicas y todos las localidades. Calcularon los mínimos cuadrados medios y las desviaciones estándar de los datos de todas las localidades e identificaron diferencias estadísticamente significativas mediante una prueba t con un nivel de significancia del 5% (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017).

Para el segundo análisis estadístico, de los resultados obtenidos evaluaron para cada localidad los datos de las 3 réplicas de cada entrada de maíz de cada localidad. Calcularon los mínimos cuadrados medios y las desviaciones estándar para cada localidad y entrada de maíz y utilizaron una prueba t para identificar diferencias estadísticamente significativas con un nivel de significancia del 5% (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017).

Ensayos de campo en Chile (1998/1999)

Análisis de proximales

Los resultados de los análisis de proximales de las muestras de grano recogidas durante el ensayo no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre la línea de maíz 1507 y las muestras control no transgénicas (tabla 1).

Tabla 1: Las medias y los p-valores (de todas las localidades) del análisis de proximales del grano de la línea de maíz 1507 (transgénica) y un híbrido de maíz de control (no transgénico) a partir de las muestras recogidas en los ensayos de campo de 1998/1999 en Chile. (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017).

Variable (% peso seco)	Línea de maíz 1507 (medias)	Línea Control (medias)	p-valor	Rango según literatura*
Grasa	3.83	3.94	0.046	3.1-5.7
Proteína	11.20	11.32	0.611	6.0-12
ADF	3.55	3.68	0.250	3.0-4.3
NDF	10.47	10.08	0.315	8.3-11.9
Ceniza	1.51	1.50	0.335	1.1-3.9
Carbohidratos	83.45	83.23	0.352	63.3-89.7
**				

* Watson, 1982 y 1987.

** Carbohidratos calculados como el % peso seco menos % proteína, grasa y ceniza.

Análisis de aminoácidos

Compararon los niveles de dieciocho aminoácidos en el grano de la línea de maíz 1507 y el control no transgénico, los resultados se muestran en la Tabla 2. Hubo dos analitos: la cisteína y la metionina, en los que la diferencia entre las dos líneas resultó ser estadísticamente significativa, pero la magnitud de la diferencia fue pequeña y no lo consideraron como biológicamente significativo ya que los valores se encontraron dentro de los rangos previamente informados en la literatura (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017).

Tabla 2: Composición de aminoácidos del grano de maíz. Los valores son medias expresadas como un porcentaje en base al peso seco (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017).

Aminoácidos	Línea de maíz 1507 (medias)	Línea Control (medias)	p-valor	Rango según literatura* a b
--------------------	--	---------------------------------------	----------------	--

Glicina	0.39	0.40	0.150	0.26-0.47 0.24-0.41
Treonina	0.40	0.41	0.302	0.29-0.39 0.21-0.37
Valina	0.51	0.52	0.902	0.21-0.52 0.25-0.67
Isoleucina	0.40	0.40	0.952	0.26-0.40 0.19-0.39
Leucina	1.42	1.43	0.880	0.78-1.52 0.43-1.35
Fenilalanina	0.56	0.57	0.479	0.29-0.57 0.04-0.54
Histidina	0.29	0.30	0.822	0.20-0.28 0.21-0.32
Lisina	0.32	0.32	0.522	0.20-0.38 0.19-0.36
Arginina	0.44	0.45	0.672	0.29-0.59 0.28-0.55
Cisteína	0.21	0.23	<0.0001	0.12-0.16 0.13-0.27
Metionina	0.19	0.20	0.020	0.10-0.21 0.12-0.26
Triptofano	0.08	0.08	0.065	0.05-0.12 0.05-0.10
Serina	0.54	0.55	0.390	0.42-0.55 0.25-0.46
Alanina	0.84	0.85	0.727	0.64-0.99 0.37-0.81
Ácido glutámico	2.14	2.18	0.472	1.24-1.96 0.89-2.02
Prolina	1.01	1.03	0.679	0.66-1.03 0.43-1.01
Ácido aspártico	0.77	0.81	0.102	0.58-0.72 0.37-0.80
Tirosina	0.20	0.20	0.954	0.29-0.47 0.17-0.31

a: Watson, 1982

b: Datos del análisis de 22 híbridos comerciales de Pioneer

Análisis de ácidos grasos

El aceite de maíz es una excelente fuente de ácidos grasos poliinsaturados, con un alto nivel de ácidos grasos esenciales como el ácido linoleico (18:2). Además, naturalmente tiene bajos niveles de ácidos grasos saturados como el ácido palmítico (16:0, 11%) y el ácido esteárico (18:0, 2%) (OECD, 2003). También se sabe que el aceite de maíz de las regiones más frías tiene una mayor proporción de ácidos grasos insaturados que el aceite de maíz de las zonas más cálidas, lo que parece ser

una adaptación a las condiciones climáticas. Sin embargo, el genotipo tiene una mayor influencia en la composición de los ácidos grasos que cualquier otro factor ambiental (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002). Se sabe que la variabilidad bioquímica de la composición de los ácidos grasos entre los genotipos de maíz abarca una amplia gama (OECD, 2003, 2007).

Tabla 3: Análisis de los ácidos grasos del grano, las medias y p-valores para los ácidos grasos de la composición del grano proveniente de la línea de maíz transgénica 1507 y el híbrido control para las muestras colectadas en el ensayo de campo en Chile 1998/1999. El rango de los valores encontrados en la literatura para cada uno de los analitos. (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002)

Variable respuesta^a	Línea de maíz 1507 (medias)	Línea Control (medias)	p-valor	Rango según literatura*
Palmítico	11.07	10.92	0.91	7 - 19
Esteárico	2.28	2.44	0.007	1 - 3
Oleico	30.61	32.53	0.002	20 - 46
Linoleico	53.10	51.16	0.002	35 - 70
Linolénico	1.29	1.21	0.0001	0.8 - 2

a- El valor de los ácidos grasos es el % del total de lípidos

* Watson, 1982

Realizaron el análisis de los cinco principales ácidos grasos del grano de maíz: ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18:1), ácido linoleico (18:2) y ácido linolénico (18:3). Hubo una pequeña diferencia estadísticamente significativa entre la línea de maíz 1507 y el control no transgénico en todas las mediciones, excepto por los niveles de ácido palmítico que fueron similares en ambas líneas. Sin embargo, los valores de estos ácidos grasos en la línea de maíz 1507 y el control estaban dentro del rango reportado en la literatura para el maíz (tabla 3) (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017).

Análisis de minerales

Analizaron los niveles de nueve minerales (calcio, fósforo, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio, sodio y zinc) en el grano de la línea de maíz 1507 y en la línea de control no transgénica. Sin embargo, los niveles de sodio estaban por debajo del límite de cuantificación en todas las muestras (LOQ). En cuanto a los ocho componentes minerales restantes, no detectaron diferencias significativas entre las

líneas transformadas y no transformadas. Tampoco hubo diferencias entre ninguna de las líneas y el rango de valores encontrado en la literatura (tabla 4) (FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017; Watson, 1982).

Tabla 4: Análisis de minerales en el grano de la línea de maíz 1507 (transgénica) y un híbrido de maíz de control (no transgénico) a partir de las muestras recogidas en los ensayos de campo de 1998/1999 en Chile. (FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017)

Variable respuesta^a	Línea de maíz 1507 (medias)	Línea Control (medias)	p-valor	Rango según literatura*
% Calcio	0.0036	0.0031	620	0.01 – 0.10 0.002 – 0.011 ^b
% Fósforo	0.33	0.32	161	0.25 – 0.75
Cobre ppm	2.03	2.11	0.845	0.9 – 10
% Hierro	0.0025	0.0025	0.549	0.0001 – 0.01
% Magnesio	0.12	0.13	0.524	0.09 – 1.0
% Manganeseo	0.0005	0.0006	0.0003	0.00007 – 0.0054
% Potasio	0.40	0.36	0.023	0.32 – 0.72
% Sodio	LOQ	LOQ	-	0.0 – 0.15
% Zinc	0.002	0.002	0.141	0.0012 - 0.0030

a- Porcentaje basado en peso seco o partes por millón (ppm) basados en peso seco

b- Por debajo del nivel de cuantificación del sodio al 0.01%

* Watson, 1982

Además de un rango publicado en la literatura, recopilaron datos sobre los niveles de calcio en 22 híbridos cultivados comercialmente (de Pioneer). Las modificaciones

realizadas por el laboratorio de pruebas (Woodson-Tenent) al método para determinar los niveles de calcio suelen dar lugar a cantidades de calcio inferiores a las que se indican en la literatura. Por lo tanto, consideraron más exacto comparar las líneas probadas con los datos compilados de los híbridos Pioneer que fueron analizados por el mismo método, en lugar de los datos publicados anteriormente que se produjeron utilizando un método de análisis diferente (Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017).

Análisis de vitaminas

Analizaron el grano de la línea de maíz 1507 y el maíz de control para determinar el contenido de cuatro vitaminas. Determinaron los niveles de vitamina B1, B2, tocoferoles totales (vitamina E) y ácido fólico tanto en las líneas transgénicas como en las no transgénicas para compararlos con el rango publicado en la literatura (FSANZ, 2001). Los resultados mostraron pequeñas variaciones estadísticamente significativas entre el maíz transgénico y no transgénico en términos de tocoferoles totales (ligeramente más altos en la línea de maíz 1507) y en los niveles de vitamina B1 (ligeramente más bajos en la línea de maíz 1507) (FSANZ, 2002). Sin embargo, los valores obtenidos para todos los análisis de vitaminas estaban dentro del rango respectivo previamente informado en la literatura (Watson 1982 y 1987). Cabe señalar que para la fecha no disponían de un rango típico para el ácido fólico en los cereales, aunque se informa de un valor medio de 0,3 ppm (Watson, 1987). Los niveles de ácido fólico en la línea de maíz 1507 y el maíz de control no fueron significativamente diferentes (VKM, 2017).

Tabla 5: Análisis de vitaminas en el grano de la línea de maíz 1507 (transgénica) y un híbrido de maíz de control (no transgénico) a partir de las muestras recogidas en los ensayos de campo de 1998/1999 en Chile. (FSANZ, 2001, 2002)

Variable respuesta^a	Línea de maíz 1507 (medias)	Línea Control (medias)	p-valor	Rango según literatura^b
Clorhidrato de tiamina (B1) ppm	3.64	4.06	0.002	3.0 – 8.6
Riboflavina	1.67	1.66	0.827	0.25 – 5.6

(B2)				
Ácido fólico	151	144	0.676	0.3 ^c
Tocoferoles	48.2	41.6	0.0005	42 - 87
totales				

a- Partes por millón (ppm) basados en peso seco

b- Watson, 1982

c- Watson, 1987 reporto el valor promedio para ácido fólico en grano como 0.3 mg/Kg

Ensayos de campo en Francia e Italia (1999)

El siguiente estudio realizado en Europa, la línea de maíz 1507 y un maíz de control no transgénico isogénico, fueron cultivados en ensayos de campo en diferentes localidades maiceras de Francia e Italia. En cada uno de las localidades de Italia cultivaron parcelas que comprendían plantas transgénicas asperjadas con el herbicida glufosinato de amonio, plantas transgénicas no asperjadas y plantas de control no asperjadas. El herbicida glufosinato de amonio no se aplicó a ninguna de las plantas en las localidades de los ensayos en Francia. Recogieron muestras de granos y forraje para medir diversos parámetros de composición y nutrición (EFSA 2004, 2005; VKM, 2017).

Al igual que en los ensayos de campo de Chile, los análisis de nutrientes incluyeron humedad, grasa, proteínas, cenizas, fibra y carbohidratos para las muestras de forraje. Analizaron muestras de grano para determinar el contenido de humedad, grasa bruta, proteína bruta, cenizas, fibra y carbohidratos, así como la composición de ácidos grasos y aminoácidos, los niveles de minerales, ciertas vitaminas y anti nutrientes como el ácido fítico e inhibidor de tripsina. Además, midieron los niveles de tocoferoles en el grano (EFSA 2004, 2005).

Las muestras de forraje las secaron hasta una humedad de entre el 7% y el 14% antes de procesarlas. El grano lo secaron a una humedad de entre el 9% y el 12% antes del descascarillado. Los laboratorios de Woodson-Tenent determinaron el contenido exacto de humedad de cada muestra con lo que informaron los resultados en base al peso seco (EFSA 2004, 2005; VKM, 2017).

Análisis de proximales

Los valores del análisis de los proximales son medias estimadas (en todas las localidades) y los niveles de carbohidratos los calcularon aritméticamente utilizando porcentajes medidos de proteínas, grasas y cenizas (EFSA 2004, 2005; VKM, 2017).

Tabla 6: Análisis de proximales en medias con desviación estándar, de las muestras de grano en todas las localidades de los ensayos de campo Francia e Italia 1999. (EFSA 2004, 2005)

Variable (% peso seco)	Línea 1507 (no asperjada) (media ± DE)	Línea 1507 (asperjada) (media ± DE)	Control no transgénico (mean ± SE)	Rango según literatura*
Grasa	4.21 ± 0.12	4.41 ± 0.14	4.41 ± 0.12	3.1 – 5.7
Proteína	11.73 ± 0.24	12.04 ± 0.28	10.98 ± 0.24	6.0 – 12.0
ADF	2.37 ± 0.17	2.52 ± 0.18	2.29 ± 0.17	3.0 – 4.3**
NDF	10.16 ± 0.30	10.54 ± 0.35	10.13 ± 0.30	8.3 – 11.9
Carbohidratos ^a	82.46 ± 0.57	81.97 ± 0.25	83.00 ± 0.28	63.3 – 89.7
Ceniza	1.60 ± 0.04	1.67 ± 0.05	1.56 ± 0.04	1.1 – 3.9

* Watson, 1987

**Watson, 1982

a- Los carbohidratos son calculados como el porcentaje de peso seco = 100% - % proteína - % grasa - % ceniza. Fibra (ADF y NDF) están incluidas en los carbohidratos.

Los resultados mostraron que el grano de la línea de maíz transgénico 1507, ya fuera asperjado o no, tiene niveles similares de los proximales a los de la línea de maíz de control no transgénico. Además, con la excepción del ADF (Fibra de Detergente Ácido), todas las mediciones se encontraban dentro del rango reportado por la literatura respectiva para esa variable (tabla 6). Los niveles de ADF tanto en la línea de control como en la línea transgénica fueron ligeramente inferiores al rango publicado, lo que indica una pequeña variación genotípica que no es digna de mención (EFSA 2004, 2005; VKM, 2017).

Tabla 7: Análisis de proximales en medias con desviación estándar, de las muestras de forraje en todas las localidades de los ensayos de campo Francia e Italia 1999. (EFSA 2004, 2005)

Variable (% peso seco)	Línea 1507 (no asperjada) (media ± DE)	Línea 1507 (asperjada) (media ± DE)	Control no transgénico (mean ± SE)	Rango según literatura* a*
Grasa	2.48 ± 0.30	2.41 ± 0.30	2.48 ± 0.30	0.7 – 6.7
Proteína	8.72 ± 0.29	9.27 ± 0.31	8.87 ± 0.29	3.5 – 15.9
ADF	28.07 ± 1.55	28.46 ± 1.58	28.68 ± 1.54	30**
NDF	50.62 ± 1.93	50.15 ± 2.03	50.83 ± 1.96	51**
Carbohidratos ^a	84.25 ± 0.63	83.50 ± 0.65	84.00 ± 1.31	66.9 – 94.5
Ceniza	4.56 ± 0.28	4.81 ± 0.29	4.63 ± 0.28	1.3 – 10.5

* Watson, 1982

**Watson, 1982 reporta los valores para ADF 30% y NDF 51%

a- Los carbohidratos son calculados como el porcentaje de peso seco = 100% - % proteína - % grasa - % ceniza. Fibra (ADF y NDF) están incluidas en los carbohidratos.

El análisis de los proximales de las muestras de forraje del estudio europeo tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas entre la línea de maíz 1507 y las muestras control no transgénicas. Además, hubo una estrecha correlación en los resultados aproximados obtenidos de los estudios de los hemisferios norte y sur tanto para el grano como para el forraje (tabla 7) (EFSA 2004, 2005; VKM, 2017).

Análisis de minerales

Como se observó en los ensayos de campo en Chile, los niveles de ocho minerales (calcio, fósforo, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio y zinc) presentes en el grano de la línea de maíz 1507, ya sea de plantas asperjadas o no asperjadas, y el control no transgénico, no revelaron diferencias de importancia biológica entre los comparadores (EFSA 2004, 2005; Stauffer y Zeph, 2000 en FSANZ, 2001, 2002; VKM, 2017). Además, todos los valores se encontraron dentro de los límites indicados en la bibliografía, observándose que el intervalo aceptado para los niveles de calcio se derivaba de los datos obtenidos del análisis de 22 líneas comerciales de

maíz híbrido (no modificados genéticamente) (tabla 8). Los niveles de sodio se encontraron por debajo del límite de cuantificación para todas las líneas, incluido el control no transgénico (EFSA 2004, 2005)

Tabla 8: Análisis de minerales en el grano de la línea de maíz 1507lp (transgénica) no asperjada con glufosinato de amonio, la línea 1507s asperjada con glufosinato de amonio y un híbrido de maíz control (no transgénico) a partir de las muestras recogidas en los ensayos de campo de Francia e Italia 1999. (EFSA 2004, 2005).

Variable respuesta	1507lp (no asperjada)	1507s (Asperjada)	2722 (control)	Rango según literatura*
% Calcio	0.008 ^a ± 0.001	0.007 ^a ± 0.001	0.007 ^a ± 0.001	0.01 – 0.10 0.002 – 0.011**
% Fósforo	0.33 ^{ab} ± 0.008	0.34 ^a ± 0.010	0.31 ^b ± 0.008	0.25 – 0.75
Cobre ppm	1.88 ^a ± 0.52	1.53 ^a ± 0.057	1.35 ^a ± 0.52	0.9 – 10
% Hierro	0.0021 ^{ab} ± 0.00005	0.0021 ^a ± 0.00006	0.0019 ^b ± 0.00005	0.0001 – 0.01
% Magnesio	0.114 ^a ± 0.0036	0.117 ^a ± 0.0041	0.106 ^a ± 0.0036	0.09 – 1.0
% Manganeseo	0.0008 ^a ± 0.00004	0.0008 ^a ± 0.00050	0.0008 ^a ± 0.00004	0.00007 – 0.0054
% Potasio	0.416 ^a ± 0.016	0.417 ^a ± 0.012	0.380 ^b ± 0.016	0.32 – 0.72
% Sodio	0.0015 ^a ± 0.0	0.0015 ^a ± 0.0	0.015 ^a ± 0.0	0.0 – 0.15
% Zinc	0.0018 ^a ± 0.0001	0.0017 ^a ± 0.0001	0.0019 ^a ± 0.0001	0.0012 – 0.0030

Valores medios estimados (de todas las localidades) ±DE seguido por diferentes letras (a, b, ab) son significativamente diferentes ($\alpha = 0.05$). Datos presentados como % de peso seco

* Watson, 1982

** Datos del análisis de 22 híbridos comerciales de Pioneer®

Análisis de aminoácidos

En los resultados del análisis de los aminoácidos del grano de las líneas transgénicas y no transgénicas cultivadas en los ensayos de campo europeos hay pequeñas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre la línea de maíz 1507 y su comparador en los niveles de aminoácidos indicados en la tabla 9. En general, los niveles individuales de aminoácidos en la línea de maíz 1507 son marginalmente elevados cuando se comparan con los de la línea de control, aunque las mediciones no muestran ninguna diferencia entre las plantas GM asperjadas y no asperjadas. Además, los niveles de treonina y ácido glutámico en el maíz 1507, no asperjado y asperjado, fueron marginalmente más altos que el rango respectivo publicado en la literatura (EFSA 2004, 2005).

En general, los datos indicaron que los niveles de proteína en la línea de maíz 1507 son marginalmente más altos que en el maíz no transgénico control, aunque la diferencia fue pequeña y estadísticamente no significativa. Esta diferencia se reflejó en las mediciones ligeramente elevadas de varios de los aminoácidos de la línea transgénica que se consideran típicos según antecedentes genéticos de este maíz en particular (EFSA 2004, 2005; OECD, 2007).

Tabla 9: Composición de aminoácidos del grano de maíz. Los valores son medias expresadas seguidas de \pm DE como un porcentaje en base al peso seco (Francia e Italia 1999). (EFSA 2004, 2005)

Aminoácidos	1507lp (no asperjada)	1507s (Asperjada)	2722 (control)	Rango según literatura a* b**
Glicina	0.41 ^a \pm 0.0090	0.42 ^a \pm 0.0102	0.38 ^b \pm 0.0090	0.26-0.47 0.24-0.41
Treonina	0.41 ^a \pm 0.0080	0.41 ^a \pm 0.0094	0.37 ^b \pm 0.0080	0.29-0.39 0.21-0.37
Valina	0.51 ^a \pm 0.0106	0.52 ^a \pm 0.0125	0.47 ^b \pm 0.0106	0.21-0.52 0.25-0.67
Isoleucina	0.41 ^a \pm	0.41 ^a \pm	0.36 ^a \pm	0.26-0.40

	0.0098	0.0116	0.0098	0.19-0.39
Leucina	1.38 ^a ± 0.03	1.41 ^a ± 0.04	1.23 ^b ± 0.04	0.78-1.52 0.43-1.35
Fenilalanina	0.55 ^a ± 0.018	0.56 ^a ± 0.014	0.49 ^a ± 0.012	0.29-0.57 0.04-0.54
Histidina	0.31 ^a ± 0.0065	0.32 ^a ± 0.0076	0.29 ^a ± 0.0065	0.20-0.28 0.21-0.32
Lisina	0.32 ^a ± 0.008	0.33 ^a ± 0.009	0.31 ^a ± 0.008	0.20-0.38 0.19-0.36
Arginina	0.47 ^a ± 0.012	0.48 ^a ± 0.014	0.44 ^a ± 0.012	0.29-0.59 0.28-0.55
Cisteina	0.22 ^a ± 0.004	0.23 ^a ± 0.005	0.22 ^a ± 0.004	0.12-0.16 0.13-0.27
Metionina	0.20 ^a ± 0.0035	0.21 ^a ± 0.0041	0.20 ^a ± 0.0035	0.10-0.21 0.12-0.26
Triptofano	0.10 ^a ± 0.0035	0.10 ^a ± 0.0037	0.09 ^a ± 0.0035	0.05-0.12 0.05-0.10
Serina	0.55 ^a ± 0.012	0.56 ^a ± 0.014	0.50 ^b ± 0.012	0.42-0.55 0.25-0.46
Alanina	0.83 ^a ± 0.018	0.85 ^a ± 0.022	0.74 ^b ± 0.018	0.64-0.99 0.37-0.81
Ácido glutámico	2.12 ^a ± 0.050	2.18 ^a ± 0.060	1.90 ^b ± 0.050	1.24-1.96 0.89-2.02
Prolina	1.00 ^a ± 0.0212	1.04 ^a ± 0.0258	0.92 ^b ± 0.0217	0.66-1.03 0.43-1.01
Ácido aspartico	0.79 ^a ± 0.0157	0.81 ^a ± 0.0186	0.71 ^b ± 0.0157	0.58-0.72 0.37-0.80
Tirosina	0.21 ^a ± 0.0048	0.21 ^a ± 0.0057	0.19 ^b ± 0.0048	0.29-0.47 0.17-0.31

Valores medios de todas las localidades, las letras (a, b) muestran si son significativamente diferentes ($\alpha = 0.05$)

*Watson, 1982.

**Datos del análisis de 22 híbridos comerciales de Pioneer ®

Análisis de los ácidos grasos

Para permitir una comparación entre los ensayos, en el estudio europeo analizaron los mismos cinco ácidos grasos principales del grano de maíz: ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18:1), ácido linoleico (18:2) y ácido linolénico (18:3). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre la línea transgénica (asperjada o no con el herbicida) y la contraparte no transgénica en los niveles observados de estos cinco ácidos grasos. Todas las muestras analizadas se encontraban también dentro del rango reportado por la literatura para cada ácido graso respectivo (EFSA 2004, 2005).

Análisis de vitaminas

Al igual que en el estudio chileno, el grano de la línea de maíz 1507 y el control fue analizado por su contenido de cuatro vitaminas: clorhidrato de tiamina (B1), riboflavina (B2), ácido fólico y tocoferoles totales. Los niveles de estas vitaminas en la línea transgénicas no fueron diferentes de los del control, ya sea que las plantas hayan sido asperjadas o no (tabla 10) (EFSA 2004, 2005).

Tabla 10: Análisis de vitaminas en el grano de la línea de maíz 1507 (transgénica) asperjada o no, y un híbrido de maíz de control (no transgénico). Los valores son medias expresadas seguidas de \pm DE como un porcentaje en base al peso seco (Francia e Italia 1999).

Variable respuesta ^a ppm	1507lp (no asperjada)	1507s (Asperjada)	2722 (control)	Rango según literatura [*]
Clorhidrato de tiamina (B1)	3.502 ^a \pm 0.184	3.874 ^a \pm 0.208	3.818 ^a \pm 0.184	3.0 – 8.6
Riboflavina (B2)	1.208 ^b \pm 0.037	1.199 ^b \pm 0.045	1.314 ^a \pm 0.037	0.25 – 5.6
Ácido fólico	0.158 ^a \pm 0.005	0.161 ^a \pm 0.007	0.154 ^a \pm 0.005	0.3 ^{**}
Tocoferoles totales	28.51 ^a \pm 1.15	29.30 ^a \pm 1.40	29.24 ^a \pm 1.15	42 - 87

* Watson, 1982.

** Watson, 1987. Reporta que el valor medio para el ácido fólico en el grano es 0.3 mg/Kg

Ensayos de campo en Francia, Italia y Bulgaria (2000)

Análisis de proximales

En la temporada del año 2000, los niveles de nutrientes del maíz 1507 los compararon con los niveles del control isogénico no transgénico y los niveles reportados en la literatura. En el forraje del maíz observaron diferencias estadísticamente significativas para los proximales: grasa, proteína y carbohidratos cuando se recopilaron los datos entre las distintas localidades; sin embargo, no observaron ninguna tendencia para las localidades individuales. En las muestras del forraje analizaron los minerales fósforo y calcio. Los niveles de minerales se encontraban dentro de los rangos reportados en la literatura, tanto cuando promediaron todos los lugares como en cada uno de ellos. Sin embargo, en una localidad de Bulgaria el contenido de fósforo del control no transgénico fue significativamente mayor que en el maíz de 1507 (Tablas 12 y 13) (EFSA 2009, 2017).

Tabla 11: Recopilación del análisis de proximales en medias con desviación estándar, de las muestras de grano en todas las localidades de los ensayos de campo Francia, Italia y Bulgaria, 2000. (EFSA 2009, 2017).

Variable (% peso seco)	Línea 1507 (no asperjada) (media ± DE)	Línea 1507 (asperjada) (media ± DE)	Control no transgénico (mean ± SE)	Rango según literatura*
Grasa	3.57 ± 0.04	3.53 ± 0.04	3.54 ± 0.04	3.1 – 5.7
Proteína	10.9 ± 10.1	10.2 ± 10.1	10.1 ± 10.1	6.0 – 12.0
Fibra cruda	2.6 ± 0.0	2.6 ± 0.0	2.5 ± 0.0	2.0 – 5.5 **
ADF	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.1	3.0 – 4.3**
NDF	10.1 ± 0.1	9.9 ± 0.1	9.9 ± 0.1	8.3 –

				11.9
Carbohidratos	83.9 ± 0.1	84.6 ± 0.1	84.9 ± 0.1	78.4 – 89.8
Ceniza	1.64 ± 0.02	1.63 ± 0.02	1.54 ± 0.02	1.1 – 3.9

*Watson, 1987

** Watson 1982

Tabla 12: Recopilación del análisis de minerales en las muestras de forraje en todas las localidades de los ensayos de campo Francia, Italia y Bulgaria, 2000. (EFSA 2009, 2017).

Variable (% peso seco)	Línea 1507 (no asperjada) (media ± DE)	Línea 1507 (asperjada) (media ± DE)	Control no transgénico (mean ± SE)	Rango según literatura*
Fósforo	0.223 ± 0.005	0.228 ± 0.005	0.229 ± 0.005	0.15 – 0.55
Calcio	0.335 ± 0.013	0.301 ± 0.013	0.334 ± 0.013	0.2 – 0.6

*Watson, 1987

Tabla 13: Análisis de minerales en las muestras de forraje de una sola localidad (BU1) de los ensayos de campo de Bulgaria, 2000. (EFSA 2009, 2017).

Variable (% peso seco)	Línea 1507 (no asperjada) (media ± DE)	Línea 1507 (asperjada) (media ± DE)	Control no transgénico (mean ± SE)	Rango según literatura*
Fósforo	0.175 ± 0.006	0.1778 ± 0.006	0.208 ± 0.006	0.15 – 0.55
Calcio	0.323 ± 0.025	0.288 ± 0.025	0.346 ± 0.025	0.2 – 0.6

*Watson, 1987

En las muestras de grano, los niveles de los proximales: grasa, proteína, fibra cruda, ADF, NDF, ceniza, y carbohidratos, estuvieron todos dentro de los valores reportados en la literatura (Tabla 11). En todos los lugares, el contenido de proteínas en el maíz 1507 no asperjado con glufosinato de amonio fue significativamente mayor desde el

punto de vista estadístico en comparación con el control no transgénico (10,9% frente a 10,1% de peso seco). La cantidad de ceniza fue significativamente mayor desde el punto de vista estadístico en los granos de maíz 1507 asperjado y no asperjado, en comparación con el control no transgénico en todas las localidades. También observaron algunas diferencias esporádicas entre los granos de maíz 1507 y el control no transgénico en las distintas localidades, pero no observaron tendencias para ninguno de estos analitos en las distintas localidades (EFSA 2009, 2017).

Análisis de aminoácidos

Analizaron tanto los aminoácidos esenciales como los no esenciales en el grano de maíz 1507 (asperjado y no asperjado) y el control isogénico no transgénico. Observaron algunas diferencias estadísticamente significativas (Tabla 14) para el análisis en las distintas localidades, pero los resultados no fueron coherentes con los análisis de las localidades individuales. Los niveles de todos los aminoácidos esenciales se encontraban dentro del rango de la literatura reportada (EFSA 2009, 2017).

Tabla 14: Composición de aminoácidos del grano de maíz. Los valores son medias expresadas seguidas de \pm DE como un porcentaje en base al peso seco (Francia, Italia y Bulgaria 2000) (EFSA 2009, 2017).

Aminoácidos	1507 (no asperjada)	1507 (Asperjada)	Control	Rango según literatura ^a
Glicina	0.36 \pm 0.04	0.35 \pm 0.04	0.42 \pm 0.04	0.26-0.47
Treonina	0.36* \pm 0.00	0.34 \pm 0.00	0.34 \pm 0.00	0.29-0.39
Valina	0.47* \pm 0.00	0.45 \pm 0.00	0.44 \pm 0.00	0.21-0.52
Isoleucina	0.35* \pm 0.00	0.33 \pm 0.00	0.32 \pm 0.00	0.26-0.40
Leucina	1.31* \pm 0.02	1.23 \pm 0.02	1.19 \pm 0.02	0.78-1.52
Fenilalanina	0.52* \pm 0.01	0.49 \pm 0.01	0.47 \pm 0.01	0.29-0.57
Histidina	0.27* \pm 0.00	0.26 \pm 0.00	0.26 \pm 0.00	0.20-0.28
Lisina	0.29 \pm 0.00	0.28 \pm 0.00	0.28 \pm 0.00	0.20-0.38
Arginina	0.36 \pm 0.00	0.35 \pm 0.00	0.34 \pm 0.00	0.29-0.59
Cisteina	0.21* \pm 0.00	0.20 \pm 0.00	0.20 \pm 0.00	0.12-0.16 0.16-0.22**

Metionina	0.19 ± 0.00	0.18* ± 0.00	0.19 ± 0.00	0.10-0.21
Triptofano	0.10 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.05-0.12
Serina	0.49* ± 0.01	0.46 ± 0.01	0.45 ± 0.01	0.42-0.55
Alanina	0.80* ± 0.01	0.76* ± 0.01	0.73 ± 0.01	0.64-0.99
Ácido glutámico	1.99* ± 0.03	1.88 ± 0.03	1.82 ± 0.03	1.24-1.96 0.89-2.02**
Prolina	0.79* ± 0.01	0.76 ± 0.01	0.75 ± 0.01	0.66-1.03
Ácido aspartico	0.69* ± 0.01	0.65 ± 0.01	0.64 ± 0.01	0.58-0.72
Tirosina	0.16* ± 0.00	0.16* ± 0.00	0.15 ± 0.00	0.29-0.47 0.17-0.31**

- Watson, 1987

* Mínimos cuadrados medios; valores seguidos de asterisco ($p < 0.05$) son significativamente diferentes al control

** Rango de 22 híbridos comerciales de Pioneer®

Análisis de ácidos grasos

Analizaron los granos de maíz 1507 y el control para los seis principales ácidos grasos del maíz: palmítico, esteárico, oleico, linoleico, linolénico y araquidónico; los resultados se muestran en la Tabla 15. Sumadas todas las localidades, los niveles de ácido oleico y linoleico fueron estadísticamente significativos y diferentes del control (el oleico fue más alto, el linoleico más bajo), en el grano de maíz 1507 no asperjado con glufosinato de amonio. Estas diferencias no las observaron en las distintas localidades. En dos localidades individuales los niveles de ácido linolénico fueron estadísticamente significativos siendo más altos en el grano de maíz 1507 en comparación con el control, sin embargo, no fue una tendencia general. Todas las concentraciones de ácidos grasos se encontraron dentro de los valores reportados en la literatura (EFSA 2009, 2017).

Tabla 15: Análisis de los ácidos grasos del grano, las medias de la composición del grano proveniente de la línea de maíz transgénica 1507 y el híbrido control para las muestras colectadas en el ensayo de campo Francia, Italia y Bulgaria, 2000. El rango de los valores encontrados en la literatura para cada uno de los analitos. (EFSA 2009, 2017)

Variable respuesta	1507 (no asperjada)	1507 (Asperjada)	Control	Rango según literatura^a
Palmítico	11.0 ± 0.1	11.0 ± 0.1	11.0 ± 0.1	7 - 19
Estearico	1.62 ± 0.05	1.68 ± 0.05	1.64 ± 0.05	1 - 3
Oleico	32.6* ± 0.3	31.9 ± 0.3	31.6 ± 0.3	20 - 46
Linoleico	52.2* ± 0.3	52.9 ± 0.3	53.3 ± 0.3	35 - 70
Linolénico	1.32 ± 0.02	1.34 ± 0.02	1.30 ± 0.02	0.8 - 2
Ácido araquidónico	0.38 ± 0.00	0.37 ± 0.00	0.37 ± 0.00	0.1 - 2

a- Watson, 1987

* Mínimos cuadrados medios; valores seguidos de asterisco ($p < 0.05$) son significativamente diferentes al control

Análisis de vitaminas

En comparación con los valores de la literatura, no encontraron diferencias significativas en los niveles de vitaminas en el grano de maíz 1507. El contenido de vitamina B2 en el grano de maíz 1507 sin asperjar fue estadísticamente significativo con respecto al control cuando se sumaron los datos en todas las localidades (Tabla 16), sin embargo, esto no se observó en las localidades individuales. También observaron algunas otras diferencias en las localidades individuales, pero sin una tendencia consistente (EFSA 2009, 2017).

Tabla 16: Análisis de vitaminas en el grano de la línea de maíz 1507 (transgénica) y un híbrido de maíz de control (no transgénico) a partir de las muestras recogidas en los ensayos de campo en Francia, Italia y Bulgaria, 2000. (EFSA 2009, 2017).

Variable respuesta^a	1507 (no asperjada)	1507 (Asperjada)	Control	Rango según literatura^b
Vitamina A ^d	2.39 ± 0.18	2.68 ± 0.18	2.24 ± 0.18	0.3 – 5.4
Vitamina B1	4.34 ± 0.11	4.31 ± 0.11	4.62 ± 0.11	3.0 – 8.6
Vitamina B2	1.79* ± 0.05	1.72 ± 0.05	1.63 ± 0.05	0.25 – 5.6
Ácido fólico	0.270 ± 0.015	0.273 ± 0.015	0.283 ± 0.015	0.3 ^c

Vitamina E ^e	3.96 ± 0.72	4.81 ± 0.72	5.16 ± 0.72	3.0 – 12.1
Tocoferoles totales	48.9 ± 2.3	49.0 ± 2.3	45.3 ± 2.3	42 - 87

a- mg/Kg en peso seco

b- Watson, 1982

c- Watson, 1987 reporto el valor promedio para ácido fólico en grano como 0.3 mg/Kg

d- Medido como β-caroteno

e- Medido como α-tocoferol

* Mínimos cuadrados medios; valores seguido de asterisco (p<0.05) son significativamente diferentes al control

Análisis de metabolitos secundarios y anti nutrientes

Analizaron los siguientes metabolitos secundarios en el maíz 1507 (asperjado y no asperjado) y el control isogénico no transgénico; inositol, rafinosa, furfural, ácido P-cumárico y ácido ferúlico. También analizaron los dos posibles anti nutrientes (para el año 2000, ya son considerados como anti nutrientes): el ácido fítico y el inhibidor de la tripsina. Los niveles de rafinosa encontró dentro de los valores reportados en la literatura (para los otros metabolitos de secundarios no existía tal valor). Los niveles de furfural y ácido P-cumárico en el híbrido (tanto asperjado como no asperjado), fueron estadísticamente significativos y diferentes del control cuando se analizaron en diferentes localidades (Tabla 17). Estas diferencias no las observaron de manera consistente en los sitios individuales (EFSA 2009, 2017).

Tabla 17: Recopilación del análisis de metabolitos secundarios y antinutrientes en el grano de la línea de maíz 1507 (transgénica) y un híbrido de maíz de control (no transgénico) a partir de las muestras recogidas en los ensayos de campo en Francia, Italia y Bulgaria, 2000. (EFSA 2009, 2017).

Variable respuesta ^a	1507 (no asperjada)	1507 (Asperjada)	Control	Rango según literatura ^b
Inositol	0.155 ± 0.003	0.153 ± 0.003	0.148 ± 0.003	NR ^c
Rafinosa	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00	0.08 – 0.30
Furfural	0.0006* ±	0.0009 ±	0.0009 ±	NR ^c

	0.000	0.0000	0.0000	
Ácido P-cumárico	0.032 ± 0.001	0.031 ± 0.001	0.033 ± 0.001	NR ^c
Ácido ferúlico	0.295 ± 0.004	0.290 ± 0.004	0.287 ± 0.004	NR ^c
Ácido fítico	0.698 ± 0.021	0.683 ± 0.021	0.686 ± 0.021	0.7 – 1.0
Inhibidores de tripsina	<LOQ	<LOQ	<LOQ	NR ^c

a- Porcentaje en peso seco

b- Watson, 1982

c- NR: No reportado en la literatura para el año 2000 cuando sustentaron las pruebas para la desregulación

d- <LOQ: por debajo del nivel de cuantificación

* Mínimos cuadrados medios; valores seguido de asterisco (p<0.05) son significativamente diferentes al control

El contenido de ácido fítico en el grano de maíz es comúnmente bajo, y observaron que la concentración en los granos de maíz de 1507 se encuentra dentro de los valores publicados en la literatura (Tabla 17). El nivel de inhibidores de tripsina también suele ser bajo, y estaba por debajo del LOQ (nivel de cuantificación) para el ensayo en el maíz 1507. Los resultados mostraron que la composición nutricional del maíz 1507 (asperjado y no asperjado con glufosinato de amonio) es comparable a la de los híbridos comerciales de maíz. Ocasionalmente, constataron diferencias estadísticamente significativas para algunos de los analitos; sin embargo, estas diferencias no fueron consistentes en el tiempo y en las localidades (EFSA 2009, 2017).

7.2 Regulación del Maíz 1507 en el mundo

El evento TC1507 ha sido aprobado para el cultivo, y la alimentación de seres humanos y animales en más de 15 países alrededor del mundo. Los datos que soportaron la equivalencia sustancial fueron los anteriormente expuestos: En la tabla 18 se muestra un resumen de algunos países donde está aprobado el evento TC1507

junto con la decisión de aprobación del evento (Baktavachalam *et al.*, 2015, Brent *et al.*, 2003).

Tabla 18. Países que han aprobado el evento de maíz TC1507

País	Tipo de uso	Fecha de aprobación	Autoridad	Decisión
Australia	Alimentación humana	Julio 31, 2003	Food Standards Australia New Zealand	A446
Canadá	Alimentación humana Piensos	Octubre 10, 2002 Octubre 11, 2002	Canadian Food Inspection Agency – Animal Feed Division Health Canada – GM Foods and Other Novel Foods	DD2002-41 CN food 1507
Unión Europea	Alimentación humana Piensos	Diciembre 21, 2017	European Commission	EC-1507 (renewal)
Japón	Alimentación humana Piensos	Mayo 23, 2002 Julio 08, 2002	Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW)	- -
Méjico	Alimentación humana	Septiembre 15, 2003	Directorio de regulación y servicios sanitarios (Secretaria de Salud)	-
Nueva Zelanda	Alimentación humana	Noviembre 13, 2003	Food Standards Australia New Zealand	A446
Estados Unidos	Biopesticidas Alimentación humana y piensos	Octubre 15, 2001 Junio 08, 2001	Environmental Protection Agency (USEPA) Food and Drug Administration (USFDA)	EPA-Cry1Ab- Cry1F BNF73
Corea del sur	Alimentación	Noviembre	Rural Development	-

	humana	05, 2004	Administration (RDA)	
	Piensos	Diciembre	Food and Drug	-
	Procesamiento	24, 2002	Administration (KFDA)	
		Noviembre	Rural Development	-
		05, 2004	Administration (RDA)	
Paraguay	Multiplicación de semilla	Octubre 24, 2012	Ministerio de agricultura y ganadería	-
Brasil	Multiplicación de semilla	Diciembre 11, 2008	Comissão Técnica Nacional de Biossegurança	BRA_DA S01507
Sudáfrica	Alimentación humana	Julio 27, 2012	Department of Agriculture, Forestry and Fisheries (DAFF)	-
Vietnam	Alimentación humana	Enero 19, 2016	Ministry of Health, Ministry of Agriculture and Rural Development and Ministry of Industry and Trade	1601/QD-BNN-KHCN
	Piensos	Agosto 02, 2016	Ministry of Agriculture and Rural Development	747/QD-BTNMT
Filipinas	Alimentación humana	Octubre 07, 2013	Department of Agriculture	PHI TC1507
	Piensos	Diciembre 09, 2013		FF PHI TC1507
Uruguay	Alimentación humana	Junio 21, 2011	Comité Nacional de Bioseguridad	UY Resolución 27/2011
Colombia	Alimentación humana	Octubre 17, 2006	INVIMA	Acta número 05 Invima
	Piensos	Diciembre 15, 2006	Instituto Colombiano Agropecuario	COL Resolución 3745
	Cultivo	Febrero 26,		

7.3 Regulación en Colombia

El evento individual DAS Ø15Ø7-1, fue autorizado para consumo humano mediante el Acta número 05 del 17 de octubre de 2006 de la Sala Especializada de Alimentos de la Comisión Revisora del Invima (INVIMA, 2006) y para consumo como alimento de animales domésticos en Colombia mediante la resolución No. 003745 del 15 de diciembre de 2006 del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA, 2006). Los datos que soportaron la equivalencia sustancial fueron los mismos obtenidos en los ensayos de campo de Chile 1998/99, Francia e Italia 1999, y Francia, Italia y Bulgaria 2000.

Estrategia análisis de la equivalencia sustancial del maíz *off patent*

Siguiendo como ejemplo la estrategia de análisis parcial de la equivalencia sustancial que las compañías que han desarrollado los diferentes eventos transgénicos aprobados en Colombia, en donde estas han presentado para la autorización para el consumo humano y animal de eventos apilados previamente autorizados, en múltiples casos solo han sustentado el análisis de la equivalencia sustancial solo con el análisis de los analitos proximales (proteína, grasa, ceniza, fibra, humedad y carbohidratos) y estos ensayos en la mayorías de los casos no fueron realizados en Colombia sino en agroecosistemas septentrionales, haciendo uso de la transferencia de datos (ICA, 2011, 2013; MPSP, 2012, 2012a, 2012b, 2014; INVIMA, 2018). Una estrategia para los cultivos *off patent* es realizar un ensayo de campo con un diseño mínimo, donde se evalúen un número limitado de analitos igual al número en que los desarrolladores del evento específico presentaron para sustentar la equivalencia sustancial de eventos apilado que contienen el mismo evento.

7.4 Ensayo de campo en Colombia 2020

7.4.1 Grano

Los resultados de los análisis de proximales de las muestras de grano recogidas durante el ensayo no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos transgénicos (híbrido T, línea T1 y línea T2) de maíz *off patent* evento TC1507 y las muestras control no transgénicas (híbrido C, línea C1 y línea C2) (figura 1). Primero, el test de Kruskal-Wallis arrojó diferencias para los componentes de grano de humedad (p-value = 0.03239), proteína (p-value = 0.009354), grasa (ceniza (p-value = 0.02373) y carbohidratos (p-value = 0.008581) en al menos dos de los genotipos en comparación son diferentes, pero al realizar el post-hoc, el test de Mann-Whitney (o test de suma de rangos Wilcoxon) el cual corrige el nivel de significancia para evitar incrementar el error tipo I y muestra en que grupos existen diferencias, para todos los analitos anteriormente mencionados que en un primer momento parecían tener diferencias, después del post-hoc ninguno de ellos arrojó diferencias significativas entre los genotipos (tablas de la figura 1).

Se puede apreciar gráficamente a través de la figura 1. en la que se muestran los diagramas de cajas y bigotes para cada uno de los analitos de acuerdo al genotipo, donde vale se evidencia que en ningún caso difieren de los rangos máximos y mínimos reportados por la literatura de la base de datos del Instituto Internacional de Ciencias de la Vida ILSI-CCDB), que incluye datos procedentes de la evaluación de muestras de cultivos convencionales mediante métodos analíticos validados, ofreciendo una sólida recopilación de datos de composición de alta calidad no relacionados con los genes para varios cultivos (Suit *et al.*, 2016). Para cada uno de los diferentes analitos se pueden observar visualmente (figura 1. b, d) que para humedad y fibra la variación es muy similar entre cada uno de los genotipos, aunque que existen leves diferencias para otros analitos (figura 1. a, c, e, f): en grasa total el híbrido convencional tiende a tener mayores niveles junto al híbrido transgénico, entre las líneas se evidencia lo esperado: que la línea transgénica presente una variación similar a su correspondiente línea no transgénica. En proteína el híbrido transgénico presenta los menores valores junto al híbrido convencional, la línea

convencional 1 tuvo los mayores valores en contraste con su isolínea transgénica y con la línea transgénica y no transgénica 2. En ceniza solo la línea convencional 1 presento una gran variación a diferencia de los otros genotipos analizados que mantuvieron una variación similar. Para carbohidratos el híbrido transgénico tuvo mayores niveles y la línea convencional 1 menores valores, los demás genotipos mantienen una variaciones similares. Todas estas aparentes diferencias se encuentran dentro de lo esperado de la variación natural. Todos los analitos se encontraron dentro de los valores reportados en la literatura (AFSI, 2020; Anderson, *et al.*, 2019; Cong, *et al.*, 2015; Lundry, *et al.*, 2013; Watson, 1982) (tabla 19).

Figura 1. Diagrama de cajas de las muestras de grano para cada uno de los genotipos de los analitos de: a) grasa, b) humedad, c) proteína, d) fibra cruda, e) ceniza, f) carbohidratos. En el diagrama de cajas, los "bigotes" se extienden a los valores mínimo y máximo, el recuadro nombra los percentiles 25 y 75 de los datos, la línea media indica la mediana. En la parte inferior de cada uno de los diagramas de cajas, la tabla de comparación de pares el post-hoc, el test de Wilcoxon de suma de rangos; del ensayo realizado en Colombia (2020)

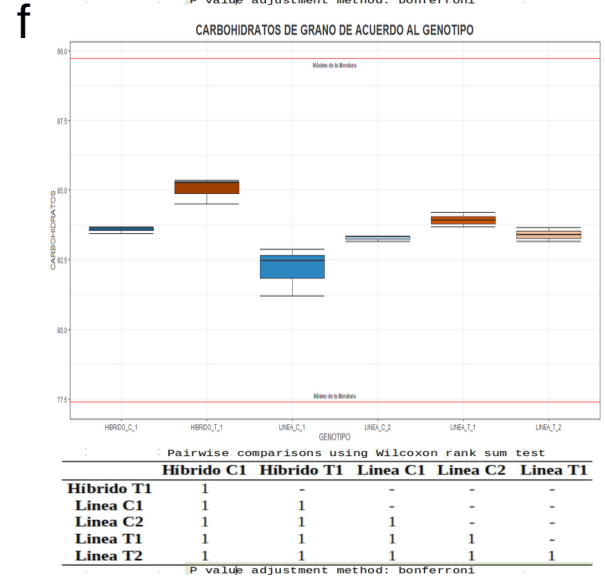
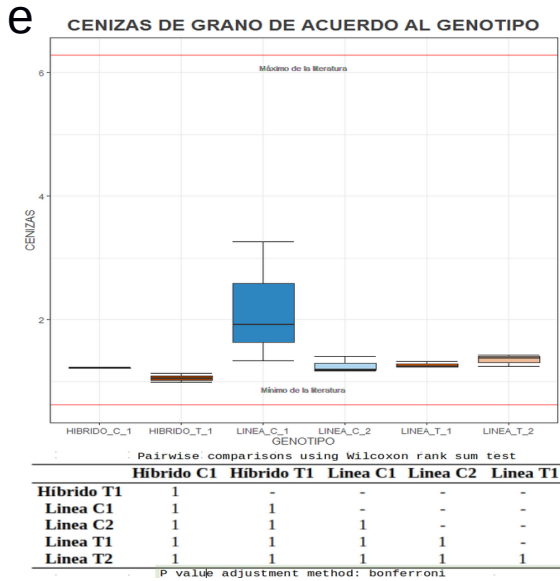
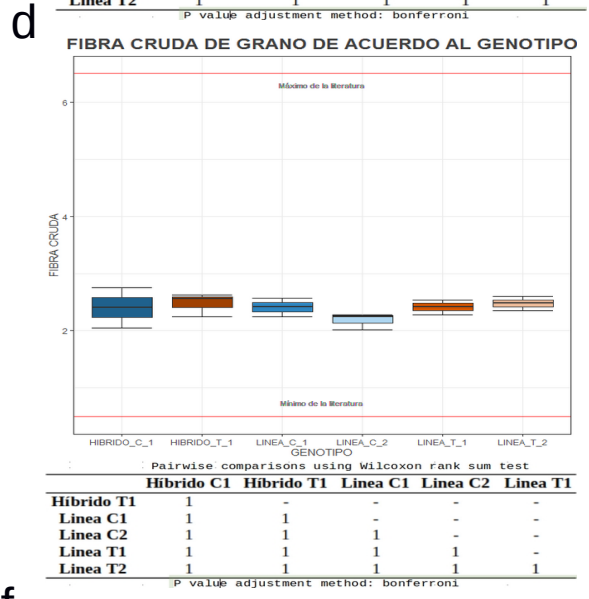
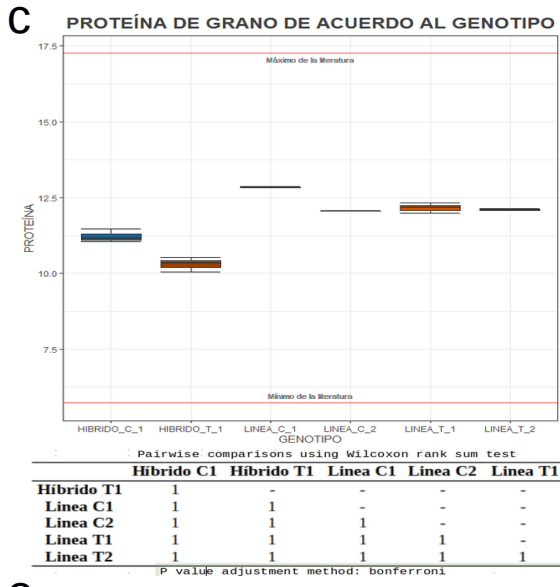
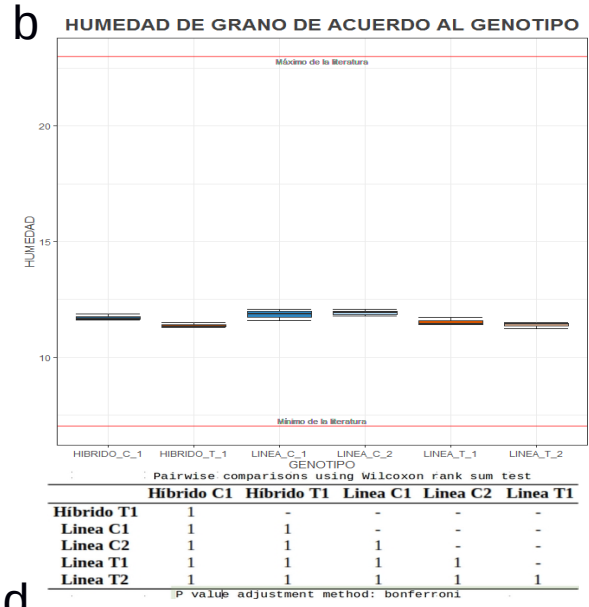
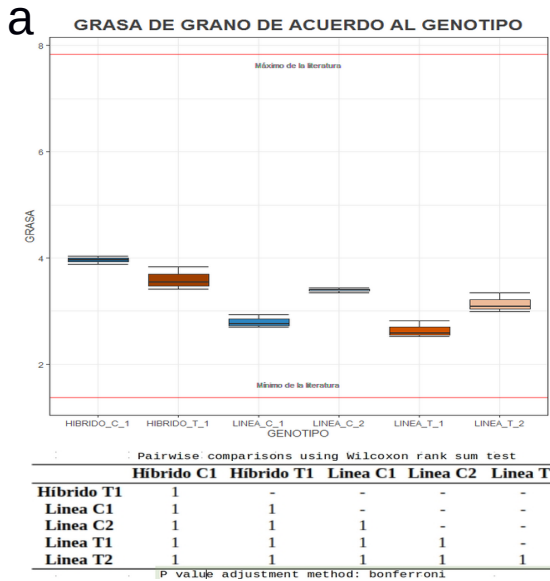


Tabla 19: Las medianas, los valores mínimos y máximos reportados del análisis de proximales del grano del híbrido de maíz *off patent* 1507 (transgénica), las líneas de maíz *off patent* 1507 I y II (transgénicas), sus respectivas isolíneas convencionales I y II (no transgénicas) y un híbrido comercial de maíz (no transgénico) a partir de las muestras recogidas en los ensayos de campo de Colombia (2020).

Variable (% peso seco)	Híbrido transgénico (TC1507) (medianas)	Línea transgénica convencional I (medianas)	Línea transgénica convencional II (medianas)	Línea convencional I (medianas)	Línea convencional II (medianas)	Híbrido convencional (medianas)	Rango según literatura*
Grasa	3.54 ± 0.355 (3.41 - 3.84)	2.58 ± 0.15 (2.52- 2.82)	3.09 ± 0.18 (2.99 - 3.35)	2.76 ± 0.12 (2.70 - 2.94)	3.40 ± 0.045 (3.35 - 3.44)	3.97 ± 0.15 (3.88 - 4.04)	1.363 – 7.83
Proteína	10.34 ± 0.24 (10.05 - 10.53)	12.17 ± 0.17 (11.99 - 12.33)	12.10 ± 0.03 (12.07 - 12.13)	12.84 ± 0.015 (12.83- 12.86)	12.06 ± 0.05 (12.06 - 12.07)	11.15 ± 0.21 (11.05 - 11.47)	5.72 – 17.26
Fibra	2.56 ± 0.185 (2.25 - 2.62)	2.42 ± 0.13 (2.28 - 2.54)	2.48 ± 0.125 (2.35 - 2.60)	2.42 ± 0.165 (2.24 - 2.57)	2.25 ± 0.13 (2.02 - 2.28)	2.41 ± 0.355 (2.05 - 2.76)	0.49 – 5.5
Ceniza	1.05 ± 0.07 (0.99 - 1.13)	1.24 ± 0.05 (1.23 - 1.33)	1.38 ± 0.095 (1.24 - 1.43)	1.92 ± 0.96 (1.34 - 3.26)	1.19 ± 0.12 (1.17 - 1.41)	1.22 ± 0.01 (1.21 - 1.23)	0.616 – 6.282
Humedad	11.33 ± 0.105 (11.29 - 11.50)	11.43 ± 0.03 (11.40 - 11.74)	11.44 ± 0.13 (11.25 - 11.51)	11.87 ± 0.255 (11.58 - 12.09)	11.92 ± 0.14 (11.79 - 12.07)	11.68 ± 0.12 (11.62 - 11.86)	7 – 23
Carbohidratos**	85.26 ± 0.43 (84.50 - 85.36)	83.91 ± 0.26 (83.68 - 84.20)	83.40 ± 0.26 (83.15 - 83.67)	82.46 ± 0.835 (81.21 - 82.88)	83.33 ± 0.09 (83.17 - 83.35)	83.65 ± 0.125 (83.44 - 83.69)	77.4 – 89.7

* (ILSI, 2016)

7.4.2 Forraje

Los resultados de los análisis de proximales de las muestras de forraje recogidas durante el ensayo no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos transgénicos (híbrido T, línea T1 y línea T2) de maíz *off patent* evento TC1507 y las muestras control no transgénicas (híbrido C, línea C1 y línea C2). Primero, el test de Kruskal-Wallis arrojó diferencias solo para el componente de grasa (p-value = 0.03) encontrando que en al menos dos de los genotipos en

comparación son diferentes, pero al realizar el post-hoc, el test de Mann-Whitney (o test de suma de rangos Wilcoxon) el cual corrige el nivel de significancia para evitar incrementar el error tipo I y muestra en que genotipos existen diferencias: para el analito de grasa anteriormente mencionado en un primer momento parecían tener diferencias, después del post-hoc no arrojó diferencias significativas entre los genotipos (tabla 20).

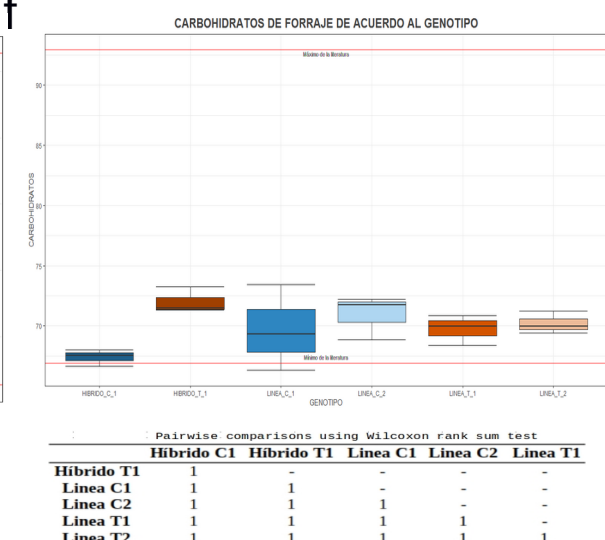
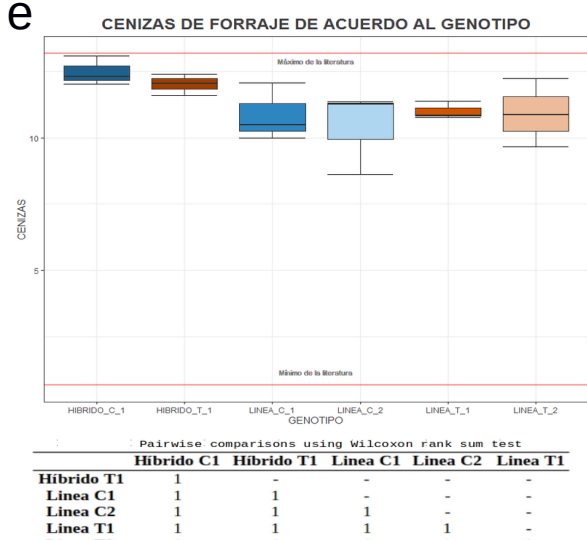
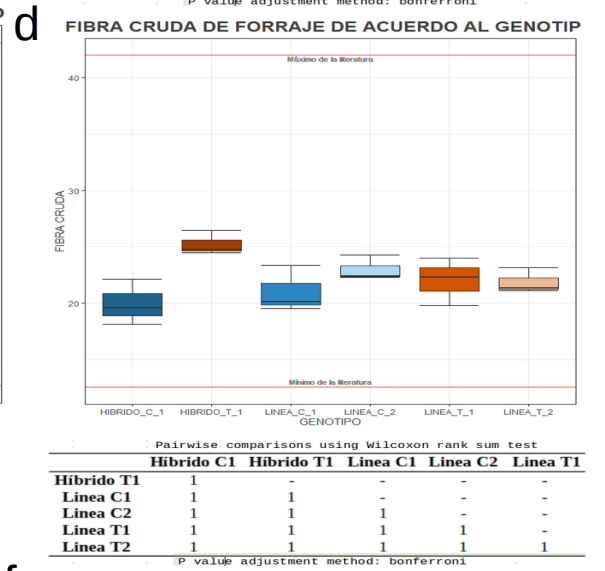
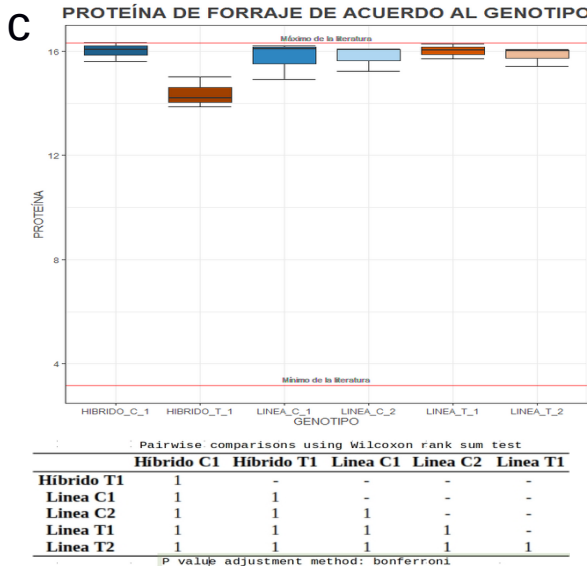
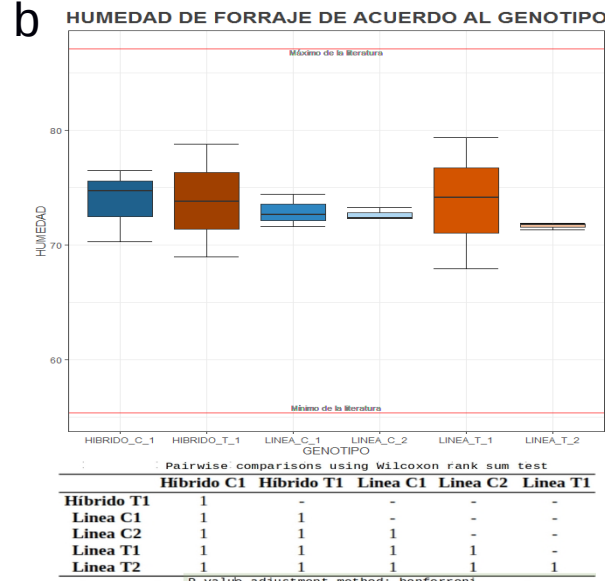
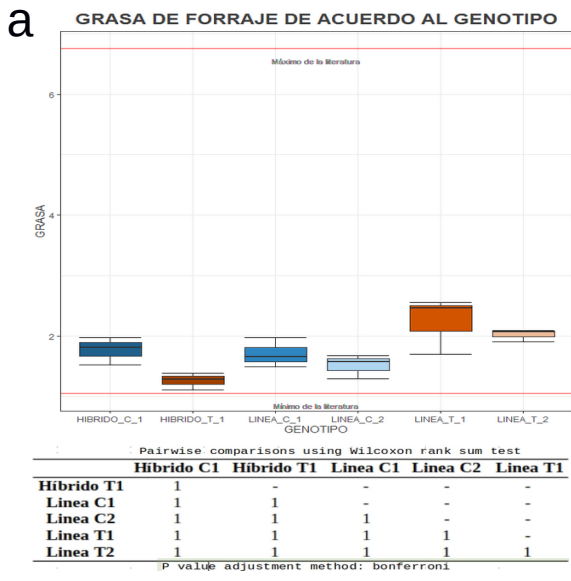
Se puede apreciar gráficamente a través de la figura 2. en la que se muestran los diagramas de cajas y bigotes para cada uno de los analitos de acuerdo al genotipo, donde se evidencia que en ningún caso difieren de los rangos máximos y mínimos reportados por la literatura. Para cada uno de los diferentes analitos se pueden observar visualmente (figura 2.) que para humedad, proteína, fibra, grasa, ceniza y carbohidratos la variación es muy similar entre cada uno de los genotipos, aunque visualmente se observan que existen leves diferencias en la variación: en humedad, únicamente el híbrido transgénico presenta unos valores menores al resto de genotipos que se encuentran casi sobre el límite máximo que es reportado por la literatura. En grasa, el híbrido transgénico presenta unos menores valores y la línea transgénica 1 unos valores mayores al resto de los genotipos. En fibra cruda, solo los híbridos muestran leves diferencias, el convencional valores menores y el transgénico, valores mayores. En humedad no se observan diferencias pero si mayores variaciones para el híbrido transgénico y la línea transgénica 1. En ceniza, el híbrido convencional muestra levemente mayores valores al resto de los genotipos. Para carbohidratos el híbrido convencional presenta unos ligeros menores valores que el resto de los genotipos, paradójicamente tiene un valor menor al reportado por la literatura pero el resto de los valores, resaltando la mediana, si se encuentran dentro de los rangos reportados. Todas estas aparentes diferencias se encuentran dentro de lo esperado de la variación natural. Todos los analitos se encontraron dentro de los valores reportados en la literatura (AFSI, 2020; Anderson, *et al.*, 2019; Cong, *et al.*, 2015; Lundry, *et al.*, 2013; Watson, 1982) (Tabla 20).

Tabla 20: Las medianas, los valores mínimos y máximos reportados del análisis de proximales del forraje del híbrido de maíz *off patent* 1507 (transgénica), las líneas de maíz *off patent* 1507 I y II (transgénicas), sus respectivas isolíneas convencionales I y II (no transgénicas) y un híbrido comercial de maíz (no transgénico) a partir de las muestras recogidas en los ensayos de campo de Colombia (2020).

Variable (% peso seco)	Híbrido transgénico (TC1507) (medianas)	Línea transgénica convencional I (medianas)	Línea transgénica convencional II (medianas)	Línea convencional I (medianas)	Línea convencional II (medianas)	Híbrido convencional (medianas)	Rango según literatura*
Grasa	3.54 ± 0.355 (3.41 - 3.84)	2.58 ± 0.15 (2.52- 2.82)	3.09 ± 0.18 (2.99 - 3.35)	2.76 ± 0.12 (2.70 - 2.94)	3.40 ± 0.045 (3.35 - 3.44)	3.97 ± 0.15 (3.88 - 4.04)	1.363 – 7.83
Proteína	10.34 ± 0.24 (10.05 - 10.53)	12.17 ± 0.17 (11.99 - 12.33)	12.10 ± 0.03 (12.07 - 12.13)	12.84 ± 0.015 (12.83- 12.86)	12.06 ± 0.05 (12.06 - 12.07)	11.15 ± 0.21 (11.05 - 11.47)	5.72 – 17.26
Fibra	2.56 ± 0.185 (2.25 - 2.62)	2.42 ± 0.13 (2.28 - 2.54)	2.48 ± 0.125 (2.35 - 2.60)	2.42 ± 0.165 (2.24 - 2.57)	2.25 ± 0.13 (2.02 - 2.28)	2.41 ± 0.355 (2.05 - 2.76)	0.49 – 5.5
Ceniza	1.05 ± 0.07 (0.99 - 1.13)	1.24 ± 0.05 (1.23 - 1.33)	1.38 ± 0.095 (1.24 - 1.43)	1.92 ± 0.96 (1.34 - 3.26)	1.19 ± 0.12 (1.17 - 1.41)	1.22 ± 0.01 (1.21 - 1.23)	0.616 – 6.282
Humedad	11.33 ± 0.105 (11.29 - 11.50)	11.43 ± 0.03 (11.40 - 11.74)	11.44 ± 0.13 (11.25 - 11.51)	11.87 ± 0.255 (11.58 - 12.09)	11.92 ± 0.14 (11.79 - 12.07)	11.68 ± 0.12 (11.62 - 11.86)	7 – 23
Carbohidratos**	85.26 ± 0.43 (84.50 - 85.36)	83.91 ± 0.26 (83.68 - 84.20)	83.40 ± 0.26 (83.15 - 83.67)	82.46 ± 0.835 (81.21 - 82.88)	83.33 ± 0.09 (83.17 - 83.35)	83.65 ± 0.125 (83.44 - 83.69)	77.4 – 89.7

Figura 2. Diagrama de cajas de las muestras de forraje para cada uno de los genotipos de los analitos de: a) grasa, b) humedad, c) proteína, d) fibra cruda, e) ceniza, f) carbohidratos. En el diagrama de cajas, los "bigotes" se extienden a los valores mínimo y máximo, el recuadro nombra los percentiles 25 y 75 de los datos, la línea media indica la mediana, en rojo los valores mínimos y máximos reportados en

la literatura para cada analito. En la parte inferior de cada uno de los diagramas de cajas, la tabla de comparación de pares el post-hoc, el test de Wilcoxon de suma de rangos.; del ensayo realizado en Colombia (2020).

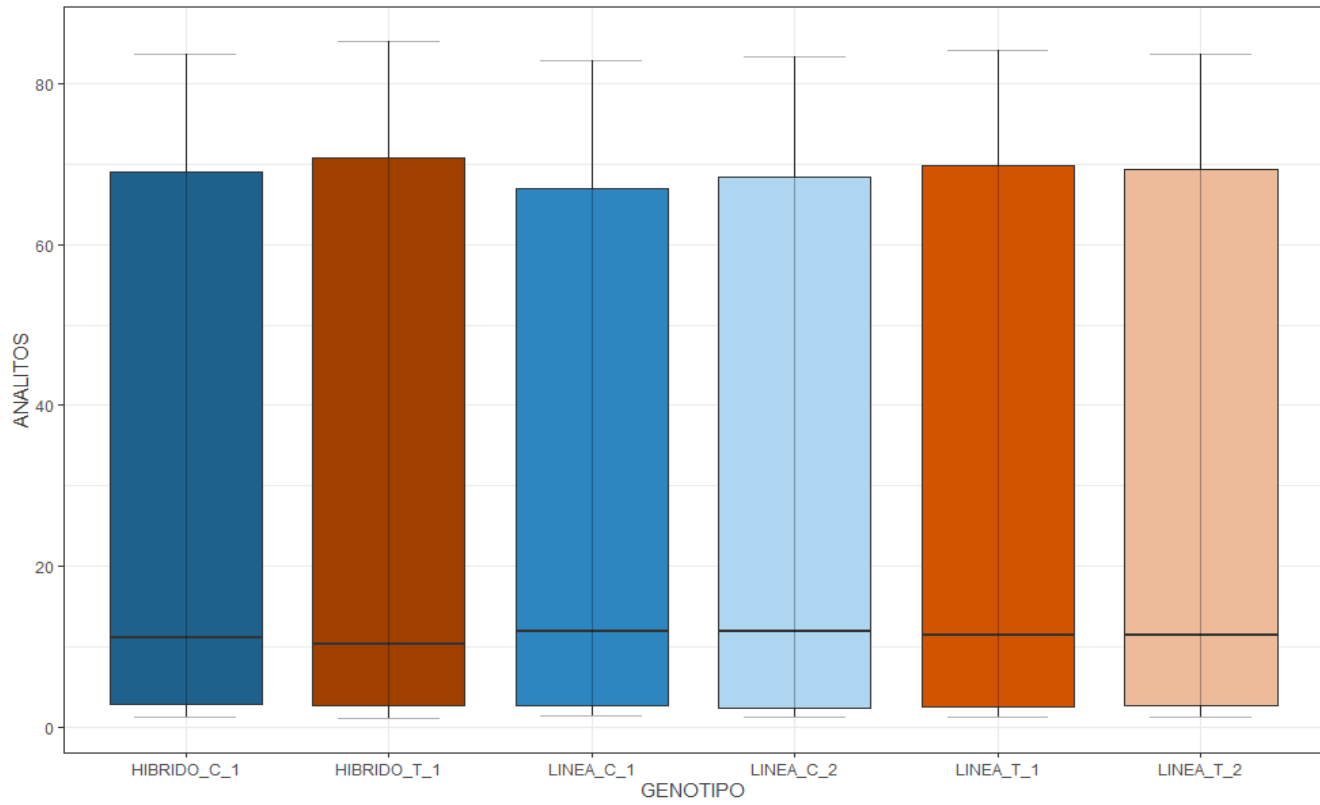


7.4.3 Análisis total grano

En el análisis de la combinación de los datos de todas las réplicas para grano de cada uno de los genotipos respectivamente, el test de Kruskal-Wallis no arrojó diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-value} = 0.9997$) entre los genotipos y su respectivo post-hoc el test de Wilcoxon tampoco encontró diferencias entre los genotipos.

Figura 3. Diagrama de cajas de las muestras de grano para cada uno de los genotipos del total de analitos. En el diagrama de cajas, los "bigotes" se extienden a los valores mínimo y máximo, el recuadro nombra los percentiles 25 y 75 de los datos, la línea media indica la mediana, del ensayo realizado en Colombia (2020)

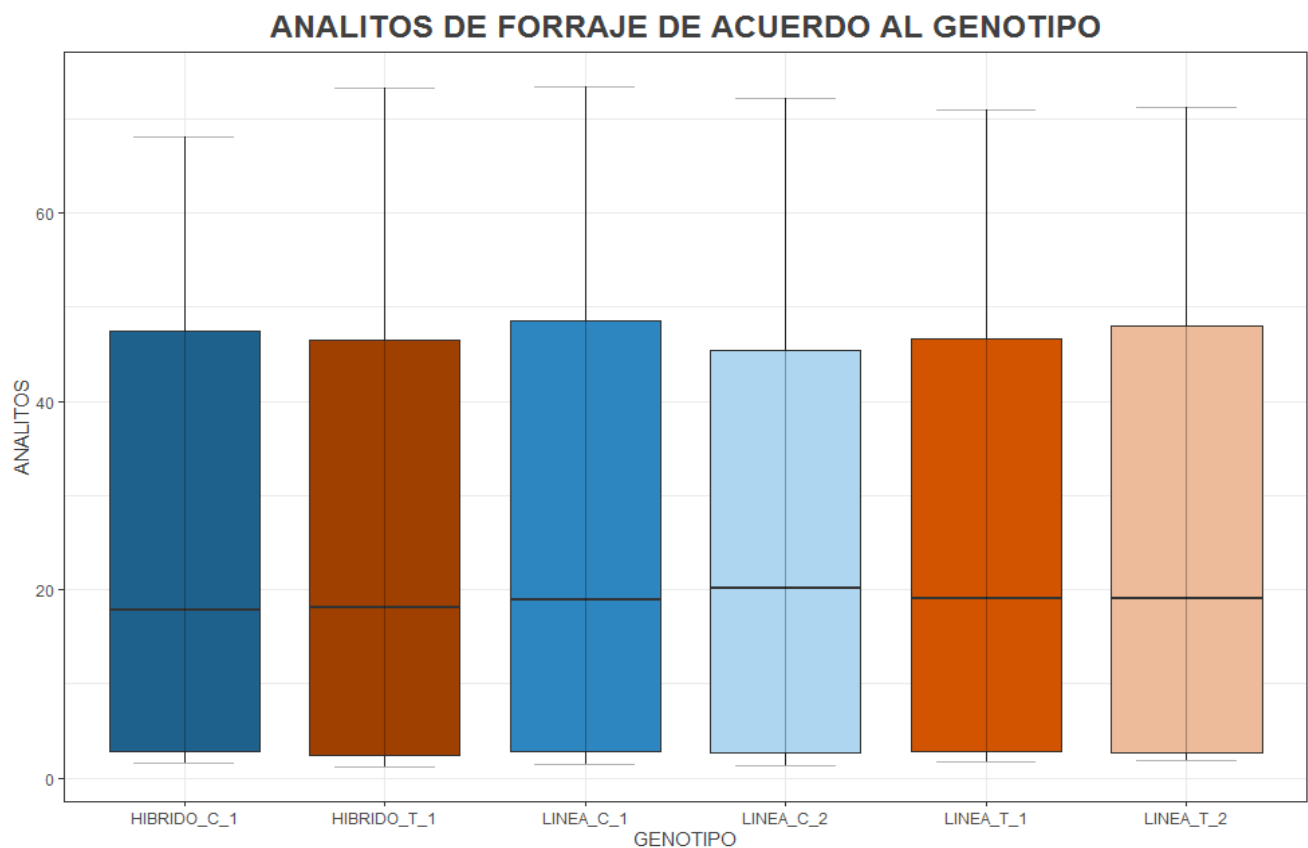
ANALITOS DE GRANO DE ACUERDO AL GENOTIPO



7.4.4 Análisis total forraje

En el análisis de la combinación de los datos de todas las réplicas para forraje de cada uno de los genotipos respectivamente, el test de Kruskal-Wallis no arrojó diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-value} = 0.9994$) entre los genotipos y su respectivo post-hoc el test de Wilcoxon tampoco encontró diferencias entre los genotipos.

Figura 3. Diagrama de cajas de las muestras de grano para cada uno de los genotipos del total de analitos. En el diagrama de cajas, los "bigotes" se extienden a los valores mínimo y máximo, el recuadro nombra los percentiles 25 y 75 de los datos, la línea media indica la mediana, del ensayo realizado en Colombia (2020)



El maíz *off-patent* evento TC 1507, fue resultado del cruzamiento de una línea de maíz elite convencional de CENICEL- FENALCE y de un maíz HERCULEX (Evento TC 1507), este estudio es el primero en realizar el análisis composicional para determinar la equivalencia sustancial como parte de los requisitos para solicitar la autorización de consumo humano y animal por parte de las autoridades regulatorias Colombianas, no existe otro estudio similar con el que comparar los resultados, pero es importante resaltar otros estudios aportan a la discusión de como la equivalencia sustancial se mantiene entre los comparadores convencionales y los transgénicos, y que para el caso de los *off patent*, un diseño como el que se planteo para este estudio, debería ser suficiente para demostrar la equivalencia sustancial de un evento previamente autorizado en Colombia y en el mundo por múltiples autoridades regulatorias.

Mismo casete de expresión, diferentes eventos de transformación, los investigadores Lai *et al.*, (2011) evaluaron diferentes eventos de maíz que se produjeron utilizando el mismo casete de expresión para la transformación. Los resultados de proteína, grasa, fibra, ceniza y almidón observados les permitieron comparar la composición del grano de diferentes eventos de maíz transformados con el mismo casete en el mismo fondo genético de maíz y que fueron cultivados en la misma localidad (ambiente). No observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) del nuevo gen introducido en la composición del grano en cuanto a los analitos previamente mencionados. Reed *et al.*, (2001) observaron resultados similares con siete eventos independientes de maíz producidos por la introducción del gen *manA* de *E. coli* que codifica la fosfomanosa isomerasa dirigido por el promotor de la ubiquitina del maíz.

Mismo evento de transformación, diferentes fondos genéticos del germoplasma, Lai *et al.*, (2011), diseñaron un experimento donde cruzaron un único evento de transformación de maíz con varios probadores, analizaron el grano producido a partir de estos cruces híbridos. Los resultados de los analitos proximales y del perfil de los aminoácidos clave demostraron que los diferentes híbridos de maíz pueden distinguirse en base a su composición, sin embargo, la presencia del transgén (en este caso un marcador de selección), no tuvo ningún efecto sobre la composición

relativa, siendo equivalentes sustancialmente con respecto a los comparadores convencionales.

Mismo evento de transformación, diferentes localidades de cultivo, Privalle *et al.*, (2013) cultivaron una variedad de papa transgénica (evento EH92-527-1) y tres variedades de papa convencionales en cinco lugares diferentes de Suecia, Países Bajos y Alemania. Los resultados mostraron que hay más variación debido a la localización que a la presencia de la inserción transgénica. Por ejemplo, en los niveles de sodio de las papas observaron un nivel mucho más alto en todas las variedades en la localidad de Países Bajos que en las otras localidades. También mostraron diferencias varietales o de germoplasma: la variedad *Kuras* es distinta de las demás variedades en lo que respecta a la acumulación de calcio. Esta distinción no se observa para el potasio, el magnesio o el fósforo. En la localidad de Alemania, *Kuras* es diferente en sus niveles de sodio. Estos resultados demostraron la amplia variabilidad natural de las variedades convencionales, la presencia del transgén no modificó significativamente la composición de los analitos en comparación con las variedades convencionales y que los niveles de minerales varían según la localidad debido a las diferencias en los componentes del suelo (Privalle *et al.*, 2013).

Kok *et al.* (2014) resumieron los resultados de 22 cultivos de rasgos apilados que habían sido evaluados (incluida la evaluación de la composición) por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). Llegaron a la conclusión de que no había evidencia de que el apilamiento de rasgos transgénicos a través del fitomejoramiento convencional diera lugar a cambios que plantearan problemas de seguridad. Además, varias publicaciones han informado la coherencia de los niveles de composición de un determinado cultivo de rasgos apilados con las de un comparador convencional, que junto con las aprobaciones reglamentarias de más de 60 cultivos de rasgos apilados (Bell *et al.*, 2010), proporcionan pruebas empíricas de que, como se esperaba, no se han observado efectos no deseados notables derivados de la combinación de rasgos en un cultivo de rasgos apilados.

En el caso de los eventos apilados (rasgos apilados o apilamiento de cultivos) que se originan mediante el fitomejoramiento convencional, en el que dos o más progenitores con un único evento transgénico se cruzan para producir una progenie que contiene dos o más eventos transgénicos que proporcionan una agrupación útil de rasgos, sería lo más cercano a los eventos *off patent*, y la discusión que han

suscitado en la actualidad daría una luz para ayudar a resolver el vacío regulatorio para la autorización para consumo humano y animal en donde la equivalencia sustancial y otras evaluaciones de seguridad juegan un papel fundamental (Kok *et al.*, 2014). El fitomejoramiento convencional tiene un historial de uso seguro establecido (Pilacinski *et al.*, 2011), en el sentido de que se han introducido miles de nuevas variedades para su uso en alimentos y/o piensos sin que hayan surgido problemas de seguridad.(Steiner *et al.*, 2013), Se sabe que tanto los factores genéticos (como la variedad del cultivo) y el efecto del ambiente (lugar de cultivo, condiciones climáticas, aplicación de fertilizantes, etc.) pueden influir en la composición de un cultivo y que el nivel de un componente concreto puede variar sustancialmente sin plantear un problema nutricional o de seguridad (Harrigan *et al.*, 2010; Cong *et al.*, 2015), esta variabilidad natural proporciona un contexto importante, en el sentido de que un valor de un componente en un cultivo GM que es coherente con los valores observados previamente para las variedades no GM proporciona la garantía de que el cultivo GM es tan seguro como las variedades convencionales con respecto al nivel de ese componente dado, aunque es importante señalar que los valores fuera de la variación documentada no indican automáticamente una falta de seguridad. La evaluación de seguridad de un cultivo transgénico de un único rasgo introducido sigue las directrices establecidas por el *Codex Alimentarius* (2013) como relevantes y suficientes para la evaluación de la seguridad alimentaria de los cultivos GM. Desde el punto de vista de la reglamentación, los cultivos de rasgos apilados y los *off patent* difieren de los cultivos de rasgos únicos, ya que contienen eventos que no son nuevos para las autoridades reguladoras, pues ya han sido evaluados en su totalidad en los eventos únicos que los componen. Esta distinción es importante, ya que la preocupación por la seguridad de los cultivos transgénicos gira en torno a la seguridad del rasgo introducido y a la posibilidad de que se produzcan efectos adversos no deseados como resultado de la introducción del rasgo, Herman y Price (2013)

Los enfoques de evaluación de seguridad para los cultivos de rasgos apilados varían a nivel mundial, hay organismos reguladores que abordan un cultivo de rasgos apilados como si se tratase de cultivo de un nuevo evento que requiere una evaluación de *novo*, a pesar de que exista evidencia y evaluaciones de seguridad donde hayan demostrado la bioseguridad, la inocuidad y equivalencia sustancial para cada uno de los eventos transgénicos individuales que componen al cultivo de

eventos apilados. Este enfoque parte de la preocupación sobre la posible interacción entre eventos que podría dar lugar a características de la planta diferentes a la de suma esperada de los eventos apilados, Steiner *et al.*, (2013) analizaron ampliamente el potencial general de las interacciones de los eventos en los cultivos de eventos apilados, destacaron el hecho de que, dado que se conocen las características funcionales de los casetes de expresión introducidos, es posible desarrollar hipótesis sobre si una combinación específica de rasgos interactuaría para afectar al metabolismo de la planta de una manera novedosa y sobre si la hipotética interacción supondría algún riesgo, por ejemplo, algunos cultivos de rasgos apilados de tolerancia a herbicidas, como la tolerancia al glifosato combinado con la tolerancia a dicamba a través del fitomejoramiento convencional, de acuerdo a los distintos mecanismos por los que estas dos enzimas confieren su respectivo rasgo de tolerancia a herbicidas y la disimilitud química de sus respectivos sustratos, no hay ninguna hipótesis plausible de que interactúen en un producto de rasgo apilado que justifique cualquier nueva preocupación de seguridad por su combinación, de hecho se ha demostrado empíricamente la equivalencia sustancial de un cultivo con rasgos apilados que confiere tolerancia al glifosato y a dicamba (Taylor *et.*, 2017). Específicamente para el maíz que contiene rasgos de resistencia a insectos y tolerancia a glufosinato de amonio, no hay ninguna hipótesis plausible para que su presencia combinada afecte el metabolismo de la planta y conduzca a diferencias composicionales, y aún en menor medida que se den diferencias en un *off-patent* proveniente del cruzamiento entre un híbrido transgénico y una línea convencional de maíz.

En el panorama global de las regulaciones sobre los cultivos producto de la ingeniería genética de plantas, existen actualmente dos enfoques generales para la evaluación de la seguridad de los alimentos y los piensos para un cultivos de eventos apilados y que podrían aplicarse o inclusive ser más flexibles para los cultivos *off patent*: primer enfoque, no se requieren datos o evaluaciones adicionales para un cultivo de rasgos apilados generado por el fitomejoramiento convencional cuyos eventos constituyentes previamente hayan sido evaluados y aprobados, las agencias reguladoras pueden exigir una notificación por escrito sobre el producto de eventos apilados que se va a comercializar. Ejemplos de organismos que siguen este enfoque son la FDA de los Estados Unidos, la APHIS-USDA de los Estados Unidos, la Agencia Canadiense de Inspección Alimentaria, el Ministerio de Salud de Canadá y la Agencia de Normas

Alimentarias de Australia y Nueva Zelanda, Comisión de Seguridad Alimentaria y del Ministerio de Agricultura, Silvicultura y Pesca de Japón (Pilacinski *et al.*, 2011; Steiner *et al.*, 2013; Comisión de Seguridad Alimentaria de Japón, 2016; Goodwin *et al.*, 2021). Segundo enfoque, se requiere una evaluación de seguridad para cualquier cultivo de rasgos apilados, independientemente si los eventos que lo constituyen fueron previamente evaluados y aprobados. Algunos ejemplos de agencias reguladoras que siguen este enfoque son la EFSA europea, el Ministerio de Seguridad Alimentaria y Farmacéutica de la República de Corea, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Taiwán y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios de México (Pilacinski *et al.*, 2011; Steiner *et al.*, 2013; Comisión de Seguridad Alimentaria de Japón, 2016; Goodwin *et al.*, 2021).

Siguiendo el caso de los cultivos de rasgos apilados que pueden dar una guía para resolver el desafío regulatorio para los *off patent*, en donde la formulación y evaluación de una hipótesis de riesgo específica del cultivo que evalúa la necesidad, o la falta de ella, para una evaluación adicional de la seguridad de un producto de rasgos apilados en particular, representa un enfoque para la evaluación de riesgos racional y científicamente sustentable ((Pilacinski *et al.*, 2011; Steiner *et al.*, 2013; Comisión de Seguridad Alimentaria de Japón, 2016; Goodwin *et al.*, 2021). Sin embargo, teniendo en cuenta la gran disponibilidad de conclusiones y del creciente cuerpo de datos empíricos en informes y/o en artículos científicos que evidencian la seguridad de los cultivos de eventos único relevantes, que junto al historial de uso seguro del fitomejoramiento convencional, hay una justificación científica válida para eliminar o flexibilizar los requisitos obligatorios de presentar y evaluar los datos de caracterización, inocuidad y equivalencia sustancial para cada nuevo cultivo de eventos apilados (Goodwin *et al.*, 2021) y por ende también aplicable para los cultivos *off patent*. Pragmáticamente como lo proponen Bell *et al.*, (2018) y Goodwin *et al.*, (2021), es más realista un enfoque gradual que parta de la flexibilización y termine en la eliminación de los requisitos de las evaluaciones de seguridad para los cultivos de eventos apilados (y aplicable para los cultivos *off-patent*), donde el primer paso podría ser refinar el enfoque a un único análisis específico de los eventos apilados, este enfoque proporcionaría un puente empírico a las evaluaciones previas realizadas para los eventos transgénicos aprobados que componen a los eventos apilados, donde con una evaluación simplificada del evento apilado (como en esta tesis para el maíz *off patent*) que se centrara en la composición, evaluando la

equivalencia sustancial a partir de los analitos proximales del grano (y en el caso de resistencia a insectos también forraje) en el contexto de la variabilidad natural conocida, podría utilizarse para complementar las conclusiones de seguridad alcanzadas previamente para los productos de rasgos individuales constitutivos (Bell *et al.*, 2018; Goodwin *et al.*, 2021).

8 Conclusiones

A partir del análisis comparativo del maíz 1507 con su homólogo convencional no modificado genéticamente durante múltiples ensayos de campo localizados en sitios y entornos representativos en Chile (1998/99) y en Europa (1999, 2000 y 2002) (USDA APHIS, 2000, 2001, EFSA, 2004, 2004a; Stauffer y Zeph, 2000). Con la excepción de pequeñas variaciones intermitentes como en los aminoácidos, no son indicativas de un patrón general de cambio derivada de la modificación genética, sino que se explican por la conocida variación natural (interacción genotipo por ambiente) en la composición que surge debido a una amplia gama de factores que influyen en el crecimiento y la bioquímica de las plantas (USDA APHIS, 2000, 2001, EFSA, 2004, 2004a, OECD, 2007). Mientras que las mediciones son similares en todos los sitios para la línea transformada, los análisis composicionales para la línea de control son marginalmente inferiores en general en el estudio europeo (EFSA, 2004, 2004a, 2009, 2017). No se encontraron diferencias biológicamente significativas entre el maíz 1507 y el maíz convencional (USDA APHIS, 2000, 2001, EFSA, 2004, 2004a, VKM, 2017).

Sobre la base de la evaluación de los datos disponibles anteriormente expuestos para cada uno de los analitos, se concluye que el maíz 1507 es equivalente sustancialmente desde el punto de vista de la composición, a su homólogo convencional, excepto por las características introducidas, y que su composición se encuentra dentro de los rangos normales de variación observados entre las variedades no modificadas genéticamente (USDA APHIS, 2000, 2001, EFSA, 2004, FSANZ, 2002, VKM, 2017).

A partir del análisis comparativo del maíz híbridos *off patent* 1507, de las líneas *off patent* 1507 I y II obtenidas por cruzamiento convencional, en comparación con sus homólogos no modificado genéticamente durante el ensayos de campo realizado en Colombia (2020). Con la excepción de pequeñas variaciones, no son indicativas de un patrón general de cambio derivada del cruzamiento con un híbrido que ha sido modificado genéticamente, sino que se explican por la conocida variación natural (interacción genotipo por ambiente) en la composición que surge debido a una amplia gama de factores que influyen en el crecimiento y la bioquímica de las plantas. No se encontraron diferencias biológicamente significativas entre el maíz 1507 y el maíz convencional.

Sobre la base de la evaluación de los datos disponibles anteriormente expuestos para cada uno de los analitos proximales que junto con la revisión del análisis de equivalencia sustancial, se concluye que el *maíz off* 1507 es equivalente sustancialmente desde el punto de vista de la composición, a su homólogo convencional, excepto por las características introducidas, y que su composición se encuentra dentro de los rangos normales de variación observados entre las variedades no modificadas genéticamente.

El resultado de está tesis contribuyo parcialmente a la autorización consumo directo y/o materia prima en alimentación animal, del maíz *off patent* TC1507 mediante la Resolución del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) 83354 del 29 de diciembre de 2020 y se está a la espera de la respuesta del INVIMA para la autorización para consumo humano.

Bibliografía

- AFSI (2020) Crop Composition Database, Version 8.0, Agriculture & Food Systems Institute www.cropcomposition.org

- Anderson, J. A., Hong, B., Moellring, E., TeRonde, S., Walker, C., Wang, Y., & Maxwell, C. (2019). Composition of forage and grain from genetically modified DP202216 maize is equivalent to non-modified conventional maize (*Zea mays* L.). *GM Crops & Food*, 10(2), 77-89. <https://doi.org/10.1080/21645698.2019.1609849>

- Anon. (2007). EPPO Guideline for the efficacy Evaluation of plant protection products: Design and Analysis of Efficacy Evaluation Trials, PP 1/152(3). EPPO/OEPP, Paris. pp. 139–145.

- Baker, J. M., Hawkins, N. D., Ward, J. L., Lovegrove, A., Napier, J. A., Shewry, P. R., & Beale, M. H. (2006). A metabolomic study of substantial equivalence of field-grown genetically modified wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 4(4), 381-392. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2006.00197.x>

- Baktavachalam, G. B., Delaney, B., Fisher, T. L., Ladics, G. S., Layton, R. J., Locke, M. E., Schmidt, J., Anderson, J. A., Weber, N. N., Herman, R. A., & Evans, S. L. (2015). Transgenic maize event TC1507: Global status of food, feed, and environmental safety. *GM Crops & Food*, 6(2), 80-102. <https://doi.org/10.1080/21645698.2015.1054093>

- Bell, E., Nakai, S., & Burzio, L. A. (2018). Stacked Genetically Engineered Trait Products Produced by Conventional Breeding Reflect the Compositional Profiles of Their Component Single Trait Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(29), 7794-7804. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02317>

- Bevan, M., Flavell, R. B., and Chilton, M. D. (1983). A chimaeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation. *Nature* 304, 184–187. doi: 10.1038/304184a0

- Brent, P., Bittisnich, D., Brooke-Taylor, S., Galway, N., Graf, L., Healy, M., & Kelly, L. (2003). Regulation of genetically modified foods in Australia and New Zealand. *Food Control*, 14(6), 409-416. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00037-9](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00037-9)

- Brookes, G. & Barfoot, P. (2018). Farm income and production impacts of using GM crop technology 1996–2016, *GM Crops & Food*, 9:2, 59-89

- Carpenter, J. E. (2010). Peer-reviewed surveys indicate positive impact of commercialized GM crops. *Nat Biotech* 28, 319–321.

- Cerdeira, A. L., Gazziero, D. L. P., Duke, S. O., & Matallo, M. B. (2011). Agricultural Impacts of Glyphosate-Resistant Soybean Cultivation in South America. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), 5799-5807. <https://doi.org/10.1021/jf102652y>

- Cheng, K. C., Beaulieu, J., Iquira, E., Belzile, F. J., Fortin, M. G., & Strömvik, M. V. (2008). Effect of Transgenes on Global Gene Expression in Soybean Is within the Natural Range of Variation of Conventional Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 3057-3067. <https://doi.org/10.1021/jf073505i>

- Chrispeels, M.J., (2014). Global production and consumption of genetically engineered crops. *J. Huazhong Agric. Univ.* 33, 120–132.

- Codex Alimentarius. (2003). Codex principles and guidelines on foods derived from biotechnology. Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome.

- Codex Alimentarius Commission (2013). Codex Standard for Named Vegetable Oils. Rome (Italy): Codex Alimentarius;. p. 16.

- Cong, B., Maxwell, C., Luck, S., Vespestad, D., Richard, K., Mickelson, J., & Zhong, C. (2015). Genotypic and Environmental Impact on Natural Variation of Nutrient Composition in 50 Non Genetically Modified Commercial Maize Hybrids in North America. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(22), 5321-5334. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01764>

- Duke, S. O. & Cerdeira, A. L. (2010). Transgenic crops for herbicide resistance, Vol. 2. Springer: Heidelberg, Germany.

- EFSA Application for renewal: Feed produced from 1507 maize. Summary of the application for renewal of authorisation of existing products according to article 23 of regulation (EC) no 1829/2003. Feed produced from genetically modified 1507 maize (DAS-Ø15Ø7-1). [internet] (2004). Disponible en: <https://euginius.eu/euginius/api/literature/pdf/9095514491964051003>

- EFSA Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on a request from the commission related to the notification (Reference C/NL/00/10) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/ Mycogen Seeds (Question No EFSA-Q-2004-011). *EFSA J* (2004a); 124: 1–18; <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2004.124>

- EFSA Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (reference EFSA-GMO-NL-2004-02) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds, *The EFSA Journal* (2005) 182, 1-22. [Internet]. Disponible en: <https://euginius.eu/euginius/api/literature/pdf/-1436758519488164233>

- EFSA Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on an application (EFSA-GMO-RX-1507) for renewal of authorisation for the continued

marketing of existing products produced from maize 1507 for feed use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International, Inc. / Mycogen Seeds. EFSA J (2009). a; 1138:1–11; <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1138>

- EFSA GMO Panel (EFSA Panel on genetically modified organisms), Naegeli H, Birch AN, Casacuberta J, De Schrijver A, Gralak MA, Guerche P, Jones H, Manachini B, Messe an A, Nielsen EE, Nogue F, Robaglia C, Rostoks N, Sweet J, Tebbe C, Visioli F, Wal J-M , Alvarez F, Ardizzone M, Mestdagh S and Ramon M, 2017. Scientific opinion on an application for renewal of authorisation for continued marketing of maize 1507 and derived food and feed submitted under Articles 11 and 23 of Regulation (EC) No 1829/2003 by Pioneer Overseas Corporation and Dow AgroSciences LLC. EFSA Journal (2017);15(1):4659, 11 pp. doi:10.2903/j.efsa.2017.4659

- FAO/OMS. (1996). Biotecnología e inocuidad de los alimentos. Informe de una Consulta FAO/OMS, 30 de septiembre-4 de octubre de 1996. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma y Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

- FAO/OMS. (2000). Aspectos relativos a la inocuidad de los alimentos de origen vegetal modificados genéticamente. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, y Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

- FAO. (2010). Food Quality and Standards Service has published GM food safety assessment: Tools for trainers', Pesticide & Toxic Chemical News, no. 12

- Fraley, R. (2015). Presentation to the National Academy of Sciences. Disponible en: <https://vimeo.com/album/3192610/video/115717420>

- FSANZ. Food Standards Australia New Zealand. Food derived from insect-protected and glufosinate-ammonium tolerant corn line 1507. A safety assessment. Technical report series no. 32. [Internet]. 2004. Disponible en: https://www.foodstandards.gov.au/publications/documents/32_TRX%20A446%20-%20Corn%20line%201507.pdf

- FSANZ. Food Standards Australia New Zealand. Draft assessment. Report application a446 food derived from insect-protected and glufosinate-ammonium tolerant corn line 1507. [Internet]. 2002. Disponible en: <https://www.foodstandards.gov.au/code/applications/documents/A446%20DAR%20-%20GM%20Corn.pdf>

- FSANZ. Food Standards Australia New Zealand. Final assessment report application a446 insect-protected and glufosinate ammonium-tolerant corn line 1507. [Internet]. 2003. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/gmfp/docs/ACF18.pdf

- Goodman, R.E., (2014). Biosafety: evaluation and regulation of genetically modified (GM) crops in the United States. *J. Huazhong Agric. Univ.* 33, 85–114.

- Harlander, S. K. (2002). The evolution of modern agriculture and its future with biotechnology. *J. Am. Coll. Nutr.* 21, 161S165S.

- Harrigan, G. G., Glenn, K. C., & Ridley, W. P. (2010). Assessing the natural variability in crop composition. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58(3, Supplement), S13-S20. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.08.023>

- Harrigan, G. G., Lundry, D., Drury, S., Berman, K., Riordan, S. G., Nemeth, M. A., Ridley, W. P., & Glenn, K. C. (2010a). Natural variation in crop composition and the impact of transgenesis. *Nature Biotechnology*, 28(5), 402-404. <https://doi.org/10.1038/nbt0510-402>

- Herman, R. A., & Price, W. D. (2013). Unintended Compositional Changes in Genetically Modified (GM) Crops: 20 Years of Research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(48), 11695-11701. <https://doi.org/10.1021/jf400135r>

- Herrera-Estrella, L., Depicker, A., Van Montagu, M., and Schell, J. (1983). Expression of chimeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid derived vector. *Nature* 303, 209–213. doi: 10.1038/303209a0

- Hothorn L.A. and Oberdoerfer R. (2006). Statistical analysis used in the nutritional assessment of novel food using the proof of safety. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 44: 125-135.

- ICA Instituto Colombiano Agropecuario. Resolución No. 003745 (15 de diciembre de 2006). Por la cual se establece que el maíz con la tecnología Herculex I®, evento TC 1507 es apto para consumo como alimento de animales domésticos en Colombia. Bogotá, Colombia. [Internet] Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/f1b4c01b-b802-4cff-ae51-db9787833a4d/3745.aspx>

- ICA Instituto Colombiano Agropecuario. Resolución 000879 (2008). Por la cual no se autoriza la importación de semillas de maíz MON- 88017-3 (CCR) al país. Bogotá, Colombia. [Internet] Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/fdbea15a-b473-4d08-bb1d-aec81acf405b/2008R879.aspx>

- ICA Instituto Colombiano Agropecuario. Resolución 003662 (2011). Por la cual se autoriza el empleo del maíz SmartStax TM (MON-89Ø34-3 x DAS- Ø15Ø7-1 x MON-88Ø17-3 x DAS-59122-7), para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos. Bogotá, Colombia. [Internet] Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/3bcf82f7-262e-4760-9218-71a08261e92b/2011R3662.aspx>

- ICA Instituto Colombiano Agropecuario. Resolución 003050 (2013). Por la cual se autoriza el uso del maíz MON89034 x 1507 x NK603 (MON-89Ø34-3 x DAS- Ø15Ø7-1 x MONØØ6Ø3-6) para consumo directo y/o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos. Bogotá, Colombia. [Internet] Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/3b3a12fe-8289-4c02-88e4-a8998cb7bec4/2013R3050.aspx>

- INVIMA Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. Acta 05/06 (2006). Comisión revisora de medicamentos y productos biológicos, de alimentos y bebidas alcohólicas, de insumos para la salud y productos varios. Conceptuar sobre el empleo del producto: granos de maíz, provenientes de híbridos de maíz con

tecnología Bt Herculex I. (2006). Bogotá, Colombia. [Internet]. Disponible en: <http://bch.biodiv.org/database/attachedfile.aspx?id=1036>

- INVIMA Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. Resolución No. 2018027808 (2018). Por la cual se autoriza el uso de Maíz TC1507 x MIR604 x NK603 (DAS-01507-1 x SYN-IR604-5 x MON-00603-6) como materia prima para la producción de alimentos para consumo humano. Bogotá, Colombia. [Internet]. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/gmfp/docs/Resoluci%C3%B3n%202018027808%20de%202018.pdf

- James C (2010) In Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. ISAAA Briefs No. 42. ISAAA, Ithaka, NY

- Jefferson, D. J., Graff, G. D., Chi-Ham, C. L., and Bennet, A. B. (2015). The emergence of AgBiogenerics. *Nat. Biotechnol.* 33, 819–823.

- Jiménez-Barreto, Jenny, Chaparro-Giraldo, Alejandro, Mora-Oberlaender, Julián, & Vargas-Sánchez, José Ever. (2016). Molecular characterization and Freedom to Operate analysis of maize hybrids from genetically modified and Colombian varieties. *Agronomía Colombiana*, 34(3), 309-316. <https://dx.doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n3.60350>

- Jonas, D.A., Antignac, E., Antoine, J.M., Classen, H.G., Huggett, A., Knudsen, I., Mahler, J., Ockhuizen, T., Smith, M., Teuber, M., Walker, R., De Vogel, P., (1996). The safety assessment of novel foods. Guidelines prepared by ILSI Europe Novel Food Task Force. *Food Chem. Toxicol.* 34, 931–940.

- Kok, E. J., Pedersen, J. W., Onori, R., Sowa, S., Schauzu, M., De Schrijver, A., & Teeri, T. H. (2014). Plants with stacked genetically modified events: To assess or not to assess?. *Trends in Biotechnology*, 32(2), 70-73. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.12.001>

- Kowalski S., Ehora R., Kryder R., Potter R. (2002). Transgenic crops, biotechnology and ownership rights: what scientists need to know? *Plant Journal.* 31(4): 407-421.

- König, A., Cockburn, A., Crevel, R. W. R., Debruyne, E., Grafstroem, R., Hammerling, U., Kimber, I., Knudsen, I., Kuiper, H. A., Peijnenburg, A.A.C.M., Penninks, A. H., P Oulsen, M., Schauza, M. & Wal, J. M. (2004). Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. *Food and Chemical Toxicology* 42, 1047–1088

- Kryder, R, Kowalski, S, Krattiger, A. (2000). The Intellectual and Technical Property Components of pro-Vitamin A Rice (GoldenRice™): A Preliminary Freedom-To-Operate Review. ISAAA Briefs No. 20. ISAAA: Ithaca, NY. P 56.

- Lai, F.-M., Privalle, L., Mei, K., Ghoshal, D., Shen, Y., Klucinec, J., Daeschner, K., Mankin, L. S., Chen, N., Cho, S., & Jones, T. (2011). Evaluation of the E. coli-serine ammonia lyase gene (Ec. DsdA) for use as a selectable marker in maize transformation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 47(4), 467. <https://doi.org/10.1007/s11627-011-9351-x>

- Lundry, D. R., Burns, J. A., Nemeth, M. A., & Riordan, S. G. (2013). Composition of Grain and Forage from Insect-Protected and Herbicide-Tolerant Corn, MON 89034 × TC1507 × MON 88017 × DAS-59122-7 (SmartStax), Is Equivalent to That of Conventional Corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1991-1998. <https://doi.org/10.1021/jf304005n>

- McDougall, P. (2011). The Cost and Time Involved in the Discovery, Development and Authorisation of a New Plant Biotechnology Derived Trait. Disponible en: https://croplife.org/wp-content/uploads/pdf_files/Getting-a-BiotechCrop-to-Market-Phillips-McDougall-Study.pdf

- MSPS Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 1486 (2012). Por la cual se autoriza el uso de granos de maíz, provenientes de híbridos de maíz genéticamente modificado, con la tecnología HX1 x HRW x NK603 (DAS-1507-1 x DAS-59122-7 x MON-00603-6) como alimento o materia prima para la producción de alimentos de consumo humano. Bogotá, Colombia. [Internet] Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/gmfp/docs/Resolucion%201486%20de%202012.pdf

- MSPS Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 1487 (2012a). Por la cual se autoriza el uso de granos de maíz, provenientes de híbridos de maíz genéticamente modificado, con la tecnología HX1 x MON810 (DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ81Ø-6) como alimento o materia prima para la producción de alimentos para consumo humano. Bogotá, Colombia. [Internet] Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/gmfp/docs/Resolucion%201487%20de%202012.pdf

- MSPS Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 1488 (2012b). Por la cual se autoriza el uso de granos de maíz, provenientes de híbridos de maíz genéticamente modificado, con la tecnología HX1 x MON810 x NK603 (DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ81Ø-6 x MON-ØØ6Ø3-6) como alimento o materia prima para la producción de alimentos para consumo humano. Bogotá, Colombia. [Internet] Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/gmfp/docs/Resolucion%201488%20de%202012.pdf

- MSPS Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 1861 (2014) Por la cual se autoriza el uso de Maíz MON89034 x TC1507 x NK603 (MON-89034-3 x DAS-01507-1 x MON-00603-6) como alimento o materia prima para la elaboración de alimentos de consumo humano. Bogotá, Colombia. [Internet] Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/gmfp/docs/Resolucion%201861%20de%202014.pdf

- Newman M.C. (2008). "What exactly are you inferring?" A loser look at hypothesis testing. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27: 1013-1019.

- Noushahi, H. A., & Hussain, M. (2020). Risk Assessment of Genetically Modified Plants: A Review. *Asian Journal of Research in Crop Science*, 1. <https://doi.org/10.9734/ajrcs/2020/v5i330095>

- Novak, W. K., & Haslberger, A. G. (2000). Substantial equivalence of antinutrients and inherent plant toxins in genetically modified novel foods. *Food and Chemical Toxicology*, 38(6), 473-483. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(00\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(00)00040-5)

- Oberdoerfer R.B., Shillito R.D., de Beuckeleer M and Mitten D.H. (2005). Rice (*Oryza sativa* L.) containing the bar gene is compositionally equivalent to the nontransgenic counterpart. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1457-1465

- OECD. (1993) *Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology: Concepts and Principles*. Recuperado 18 de noviembre de 2020, de https://www.iatp.org/sites/default/files/Safety_Evaluation_of_Foods_Derived_by_Modern_B.htm

- OECD, (1996). *Food Safety and Evaluation*. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

- OECD, (1997). *Report of OECD Workshop on the Toxicological and Nutritional Testing of Novel Foods*. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

- OECD. (1999) Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on harmonisation of regulatory oversight in biotechnology, number 11, ENV/JM/MONO(99)13. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.

- OECD, (2001a). Consensus document on key nutrients and key toxicants in low erucic acid rapeseed (canola). In: Environmental Directorate: Joint Meeting of Chemical Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology: Series on the Safety of Novel Foods and Feeds. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

- OECD, (2001b). Consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean: key food and feed nutrients and anti-nutrients. In: Environmental Directorate: Joint meeting of Chemical Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology: Series on the Safety of Novel Foods and Feeds. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

- OECD (2002) Module II: herbicide biochemistry, herbicide metabolism and the residues in glufosinate-ammonium (phosphinothricin)-tolerant transgenic plants. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, Number 25, ENV/JM/MONO 14. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD (2003) Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, Number 27, ENV/JM/MONO(2003)11. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development
- OECD, (2004a). Consensus document on compositional considerations for new varieties of rice (*Oryza sativa*): key food and feed nutrients and anti-nutrients. In: Environmental Directorate: Joint meeting of Chemical Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology: Series on the Safety of Novel Foods and Feeds. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
- OECD, (2004b). Consensus document on compositional considerations for new varieties of cotton (*Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*): key food and feed nutrients and anti-nutrients. In: Environmental Directorate: Joint meeting of Chemical Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology: Series on the Safety of Novel Foods and Feeds. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
- OECD. (2007) Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis*-derived insect control proteins. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, Number 42. ENV/JM/MONO(2007)14. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development
- Parrott, W., Chassy, B., Ligon, J., Meyer, L., Petrick, J., Zhou, J., Herman, R., Delaney, B., & Levine, M. (2010). Application of food and feed safety assessment principles to evaluate transgenic approaches to gene modulation in crops. *Food and Chemical Toxicology*, 48(7), 1773-1790. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.04.017>

- Pilacinski, W., Crawford, A., Downey, R., Harvey, B., Huber, S., Hunst, P., Lahman, L. K., MacIntosh, S., Pohl, M., Rickard, C., Tagliani, L., & Weber, N. (2011). Plants with genetically modified events combined by conventional breeding: an assessment of the need for additional regulatory data. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 49(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.11.004>

- Price, W. D., & Underhill, L. (2013). Application of Laws, Policies, and Guidance from the United States and Canada to the Regulation of Food and Feed Derived from Genetically Modified Crops: Interpretation of Composition Data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(35), 8349-8355. <https://doi.org/10.1021/jf401178d>

- Privalle, L. S., Gillikin, N., & Wandelt, C. (2013). Bringing a Transgenic Crop to Market: Where Compositional Analysis Fits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(35), 8260-8266. <https://doi.org/10.1021/jf400185q>

- Reed, J., Privalle, L., Powell, M. L., Meghji, M., Dawson, J., Dunder, E., Sutthe, J., Wenck, A., Launis, K., Kramer, C., Chang, Y.-F., Hansen, G., & Wright, M. (2001). Phosphomannose isomerase: An efficient selectable marker for plant transformation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 37(2), 127-132. <https://doi.org/10.1007/s11627-001-0024-z>

- Ridley, W.P., Harrigan, G.G., Breeze, M.L., Nemeth, M.A., Sidhu, R.S., Glenn, K.C., (2011). Evaluation of compositional equivalence for multitrail biotechnology crops. *J. Agric. Food Chem.* 59, 5865–5876.

- Rüdelsheim, P., Dumont, P., Freyssinet, G., Pertry, I., & Heijde, M. (2018). Off-Patent Transgenic Events: Challenges and Opportunities for New Actors and Markets in Agriculture. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00071>

- Spilke J., Piepho H.P. and Hu X. (2005). A simulation study on tests of hypotheses and confidence intervals for fixed effects in mixed models for blocked experiments with missing data. *Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics*, 10: 374-389

- Stauffer C, Zeph L (2000). Compositional analysis of maize MPS hybrid line 1507. Johnston, IA: Pioneer Hi-Bred International, Inc; and Des Moines, IA: Woodson-Tenet Laboratories, Inc; Jul. 34p. Technical Report No.: 98-09-RA-NGLP-012

- Sult, T., Barthelet, V. J., Bennett, L., Edwards, A., Fast, B., Gillikin, N., Launis, K., New, S., Rogers-Szuma, K., Sabbatini, J., Srinivasan, J. R., Tilton, G. B., & Venkatesh, T. V. (2016). Report: Release of the International Life Sciences Institute Crop Composition Database Version 5. *Journal of Food Composition and Analysis*, 51, 106-111. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.05.002>

- Taylor, M., Bickel, A., Mannion, R., Bell, E., & Harrigan, G. G. (2017). Dicamba-Tolerant Soybeans (*Glycine max* L.) MON 87708 and MON 87708 × MON 89788 Are Compositionally Equivalent to Conventional Soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(36), 8037-8045. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03844>

- Tempelman R.J. (2004). Experimental design and statistical methods for classical and bioequivalence hypothesis testing with an application to dairy nutrition studies. *Journal of Animal Science*, 82: E162-E172.

- USDA APHIS Petition for the determination of non-regulated status B.t. Cry1F insect resistant, glufosinate tolerant maize line. Washington DC: United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service; [Recuperado 18 de noviembre de 2020] 2000. Disponible en: http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/00_13601p.pdf

-USDA APHIS Decision on Mycogen Seeds c/o Dow AgroSciences LLC and Pioneer Hi-Bred International, Inc. petition 00-136-01P seeking a determination of non-regulated status for Bt Cry1F insect resistant, glufosinate tolerant corn line 1507[Recuperado 18 de noviembre de 2020] 2001. Disponible en: https://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs2/00_13601p_com.pdf

- USDA APHIS Application for an Extension of the Determination of Nonregulated Status for B.t. Cry1F insect-Resistant, Glufosinate-Tolerant Maize (00-136-01p):

Maize Line 6275. [Recuperado 18 de noviembre de 2020] 2004. Disponible en: https://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/03_18101p.pdf

- VKM (2017) Risk assessment of insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize 1507 for cultivation, import, processing, food and feed uses under Directive 2001/18/EC (C/ES/01/01, C/NL/00/10) and Regulation (EC) No 1829/2003 (EFSA/GMO/NL/2004/02, EFSA/GMO/RX/1507). Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety, Oslo, Norway. ISBN: 978-82 -8259-278-9

- Watson SA. (1982). Corn: amazing Maize. General Properties. In: Wolff IA, editor. CRC Handbook of Processing and Utilization in Agriculture. Boca Raton (FL): CRC Press;. p. 3–29.

- Wellek S. (2002). Testing Statistical Hypotheses of Equivalence. CRC Press, ISBN: 1584881607, 284 pp.

- Walters S.J. (2008). Consultants' forum: should post hoc sample size calculations be done? Pharmaceutical Statistics, published online DOI: 10.1002/pst.334.

- Wolff T. (2008). Freedom-to-Operate: my six basic rules. Searcher Magazine 16: 34-39.