



RESUMEN SOLICITUD
AUTORIZACIÓN DE USO ALGODÓN GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 ALIMENTO
DIRECTO O COMO MATERIA PRIMA PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS DE
CONSUMO ANIMAL.

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Nombre del solicitante BASF QUIMICA COLOMBIANA S.A.	2. Nombre del contacto Luis Fernando Martínez García.
3. Dirección del solicitante Calle 99 # 69C-32 Bogotá, Colombia Teléfono: 6322260 Ext.1978	4. Dirección del contacto Calle 99 # 69C-32 Bogotá, Colombia Teléfono: 6322260 Ext.1978
5. Nombre del producto (Identificador Único y otros nombres) Identificador OECD: BCS-GH811-4 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 Otros Nombres: GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 Nombre de la tecnología: Algodón GLITP	
6. Objetivo de la solicitud Autorización de uso del Algodón GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
7. Aprobaciones y usos en otros países El evento GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102, según la información suministrada por el usuario está aprobado en Australia, Brasil, Canadá, Corea (MSFD), Costa Rica, Estados Unidos y Japón. Y ha sido solicitado para autorización de uso a los organismos reguladores en Corea (RDA) y Singapur quedando en espera el concepto respectivo de cada País.	
8. Algún otro uso aprobado en Colombia La subcombinación T-304-40 x GHB119 x COT102 y cada evento individual, tienen aprobación de uso en el país, por parte del ICA, como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL ORGANISMO VIVO MODIFICADO - OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores: Organismo Familia: Malvaceae Género: <i>Gossypium</i> Especie: <i>G. hirsutum</i> L
--



Línea de mejoramiento: Coker 312, Coker 315, otras líneas.
Nombre común: Algodón

2. Descripción de la modificación genética

Las plantas de algodón provenientes del evento GHB811 x T-304-40 x GHB119 x COT102 presentan tolerancia al ataque de un rango de insectos del orden Lepidóptera y presenta tolerancia a los herbicidas con los i.a. glufosinato de amonio, glifosato y HPPD (como el ixosaflutol).

Evento GHB811

Gen *hppdPf W336*: Codifica para un enzima hidroxifenilpiruvato dioxigenasa(HPPD). La secuencia codificante hppdPF W336 fue desarrollada introduciendo una mutación puntual en el gen silvestre hppd derivado de *Pseudomonas fluorescens*. La expresión de la proteína HPPD W336 confiere tolerancia a los inhibidores de HPPD, tales como el herbicida isoxaflutole.

Los inhibidores de la HPPD bloquean la actividad de la enzima HPPD, implicada en la síntesis de carotenos. Esto impide la pigmentación en los cotiledones y/o hojas nuevas (de las especies blanco) que, en estas condiciones, serán incapaces de fotosintetizar.

Gen *2mepsps*: Codifica para la proteína 2mepsps. La secuencia codificante de 2mepsps fue desarrollada introduciendo dos mutaciones puntuales en el gen silvestre epsps clonado de maíz (*Zea mays*). La expresión de la proteína 2 mepsps confiere tolerancia a herbicidas con base en glifosato.

La proteína 2mepsps es una enzima homóloga a la EPSPS endógena del algodón (y otras plantas y microorganismos) pero a diferencia de ésta, posee mayor afinidad por su sustrato (fosfoenolpiruvato) que, por el herbicida glifosato, permitiendo que la síntesis del corismato y de los aminoácidos aromáticos continúe del mismo modo en que lo haría en ausencia del glifosato, siendo ésta la base para la tolerancia al herbicida

Evento T-304-40

Gen *Cry1Ab*: Codifica la proteína insecticida Cry1Ab que confiere protección contra el ataque de ciertos insectos lepidópteros. El producto del gen *Cry1Ab* es una forma truncada de una proteína δ -endotoxina. La proteína Cry1Ab es cortada proteolíticamente en el intestino alcalino de los Lepidópteros resultando en una forma insecticida activa. La proteína insecticida activa interactúa con una molécula receptora presente solamente en las células del epitelio del intestino medio de los insectos susceptibles, provocando poros en las membranas de las células. Como resultado, el balance osmótico celular es perturbado, las células se hinchan y sufren lisis. Las larvas de los insectos susceptibles cesan de comer y mueren.

Gen *bar*: Codifica la enzima fosfinotricin acetyl transferasa (PAT), cuya función es acetilar al grupo aminoácido libre del glufosinato para producir N-acetil glufosinato no herbicida y así lo desintoxica de la planta.



Evento GHB119

Gen Cry2Ae: Codifica la proteína insecticida Cry2Ae, que confiere la protección contra el ataque de ciertos insectos lepidópteros

Gen bar: Codifica la enzima fosfinotricin acetyl transferasa (PAT), cuya función es acetilar al grupo aminoácido libre del glufosinato para producir N-acetil glufosinato no herbicida y así lo desintoxica de la planta.

Evento COT102

Gen Vip 3Aa19: Codifica la proteína Vip3Aa19 es una exotoxina y es estructural, funcional y bioquímicamente distintos de las endotoxinas Bt delta (o proteínas Cry). Confiere protección contra el ataque de ciertos insectos lepidópteros.

Gen aph4: Codifica para expresar la enzima fosfotranferasa de higromicina B (APH4), que cataliza la fosforilación de higromicina. APH4 funciona como un marcador seleccionable dominante en las etapas iniciales de laboratorio de la selección de células vegetales como células que expresan APH4 y son capaces de sobrevivir y crecer en la presencia de higromicina. La higromicina no se utiliza en la medicina clínica y la proteína APH4 no tiene ningún papel en el final del cultivo del algodón.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Método usado para transformar la planta

El algodón GLIP (GHB811, T-304-40, GHB119 y COT102) se ha obtenido mediante cruce tradicional entre los eventos de transformación GHB811, T-304-40, GHB119 y COT102, no se ha efectuado nuevas modificaciones genéticas.

Los métodos de transformación utilizados en los eventos individuales fueron:

Evento GHB811

El evento de transformación GHB811 en *Gossypium hirsutum* fue producido por transformación mediada por *Agrobacterium*, usando el vector el cual contiene los casetes de expresión de los genes hppdPfw336-1Pa y 2mepsps.

Se germinaron las semillas de algodón de la variedad Coker312 en medio Murashige & Skoog (MS). Se disectaron fragmentos de hipocolito, que fueron transformados con el vector pTSH09 utilizando el método de *Agrobacterium tumefaciens* para transformación del hipocolito de algodón. Subsecuentemente, estos hipocólitos fueron incubados en MS para cocultivo. Después de este procedimiento, los hipocólitos fueron transferidos a un medio MS para inducción de callo. Este medio contenía Ticarcilina, para eliminar los residuos de *A. tumefaciens* y glifosato para el desarrollo de callo embrionario (EC). El EC transformado fue subcultivado en medio MS conteniendo glifosato para la inducción de embriones. Los embriones fueron germinados en medio apropiado para regeneración y producción de plántulas. Una vez desarrolladas, las plántulas fueron transferidas al invernadero y se



testearon más adelante para su tolerancia con herbicidas inhibidores de HPPD, después de los cuales permitieron la floración y producción de semilla.

Evento T304-40

El algodón modificado genéticamente derivado del evento de transformación T304-40 se obtuvo mediante transformación de tejidos de la variedad de algodón Coker 315 con el vector pTDL008 Utilizando *A. tumefaciens*, método por el cual se realiza un co-cultivo de la bacteria con los plásmidos que llevan los casetes de transformación y explantes de la planta de algodón, se transfieren los explantes a un medio que contiene el agente de selección para las células transformadas. Los brotes transformados se transfieren a nuevos medios de selección para propiciar el crecimiento de los brotes, plantas y ser trasplantados a invernadero.

Evento GHB119

El algodón modificado genéticamente derivado del evento de transformación GHB119 se obtuvo mediante la transformación de tejidos de la variedad de algodón Coker 312 con el vector pTEM12, utilizando *A. tumefaciens*.

Después de un co-cultivo, los tejidos de algodón fueron cultivados en medio selectivo con glufosinato de amonio. Al medio se añadió Clarofan (250 0 125 mg/l) para eliminar los residuos de *A. tumefaciens*. Una vez formado el callo ha sido transferido en el medio de regeneración con glufosinato de amonio. Se ha incluido el Clarofan (250 0 125 mg/l) en el medio de cultivo hasta obtener un tejido libre de *Agrobacterium*. Una vez se han formado los embriones somáticos, estos se han transferido en medios de germinación de fosfinotricina. Las plántulas se han transferido en el invernadero, y una vez que se ha comprobado su tolerancia al glufosinato de amonio, se han hecho crecer para la producción de semillas.

Evento COT102

El evento parental COT102 se obtuvo mediante transformación de algodón Coker 312 con *Agrobacterium tumefaciens*, utilizando el vector de transformación pCOT1, que contiene los genes *Vip3Aa19* y *aph4*. La transformación se llevó a cabo mediante la incubación de células de *Agrobacterium*, que contiene el vector de transformación pCOT1, con el tejido del hipocolito de algodón y posterior recubrimiento del tejido en medio de cultivo sintético que contiene higromicina B. Las plantas se regeneraron y analizaron individualmente para la presencia del gen *Vip3Aa19* por reacción en cadena de polimerasa (PCR) y técnicas para la bioactividad insecticida. Las plantas transformadas T₀ seleccionadas fueron auto - polinizadas para producir semillas T₁ y una única línea designada de plantas homocigóticas COT102 fue seleccionada de la generación T₁ para su posterior reproducción.



2. Diferencias del evento y Cultivar convencional

Dentro del documento remitido por la empresa, se cita que se llevó a cabo un estudio composicional con la finalidad de determinar los niveles de nutrientes y antinutrientes en muestras de semilla de algodón desmotada proveniente de ocho ensayos en campo y se condujo una evaluación comparativa entre el algodón GLITP (no tratado y tratado con herbicidas específicos del evento), su contraparte no modificada genéticamente (no GM) y variedades de referencia no GM.

Los ensayos a campo de los cuales se obtuvieron las muestras para realizar el estudio, se llevaron a cabo durante el año 2017 en regiones de cultivo de EEUU. Los sitios seleccionados fueron aquellos considerados representativos de las zonas de cultivo comercial de algodón.

Las muestras de semilla desmotada de algodón fueron analizadas para determinar: fibra, aminoácidos, ácidos grasos, alfa tocoferol y anti nutrientes. La composición de la semilla desmotada de GLITP fue comparada con su contraparte convencional no GM usando un análisis de varianza de modelo mixto (ANOVA). Los datos composicionales de las siete (7) variedades de referencia no GM fueron utilizadas para proveer rangos (min-máx.) y calcular los intervalos de tolerancia.

El análisis estadístico de los nutrientes y anti nutrientes de las semillas desmotadas de algodón GLITP (no tratado y tratado con herbicidas específicos del evento) comparado con su contraparte convencional no-GM (Coker 312) mostro diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para 24 de los 51 analitos analizados. A pesar de ello, los valores medios de los 24 analitos analizados se encontraron dentro del rango (min-máx.) de las variedades de referencia analizadas y dentro del intervalo de tolerancia. Por ello a pesar de que se hayan encontrado diferencias estadísticamente significativas las mismas no son consideradas biológicamente relevante debido a que los valores se hallaron dentro del rango de variabilidad natural.

Basados en el estudio realizado puede concluirse que el algodón GLITP es equivalente composicionalmente a su contraparte convencional no GM (Coker 312) y a las variedades de referencia utilizadas.

3. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto

Se realizó un estudio (Van de Wiele, 2018) con la finalidad de demostrar la estabilidad estructural de los loci transgénicos de las líneas parentales del algodón GHB811x T304-40 x GHB119 x COT102 en plantas de algodón individuales conteniendo el evento GLITP mediante análisis de Southern blot.

En conclusión, la estabilidad estructural de los loci transgénicos de las líneas de algodón parental GHB811, T304-40, GHB119, T304-40 x GHB119 y COT102, se demostró en el algodón GHB811x T304-40 x GHB119 x COT102.