

RESUMEN DE LA SOLICITUD MAÍZ MON95275 PARA CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Nombre del solicitante Bayer S.A. Colombia	2. Nombre del contacto Diana Romero
3. Dirección del solicitante Carrera 45 # 123-60 Piso 6 Bogotá, Tel (571) 4234504	4. Dirección del contacto Carrera 45 # 123-60 Piso 6 Bogotá, Tel (571) 4234504
5. Nombre del producto (Identificador Único y otros nombres) Identificador OECD: MON95275 Otros Nombres: MON-95275-7 - Maíz CRW4	
6. Objetivo de la solicitud Autorización de uso del maíz MON95275 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
7. Aprobaciones y usos en otros países El evento de maíz MON95275 se encuentra aprobado para consumo humano y animal en Australia, Brasil, Canadá, Filipinas, Indonesia, Nueva Zelanda, Unión Europea, Taiwán y Estados Unidos) y para siembra en Brasil.	
8. Algún otro uso aprobado en Colombia: El evento de maíz MON95275 aún no tiene aprobación de uso en el país.	

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL ORGANISMO VIVO MODIFICADO - OVM

1.Nombre de parentales y/o Donadores: Organismo receptor Reino: Plantae. Subdivisión: Magnoliophyta. Clase: Angiosperma. Orden: Poales. Familia: Poaceae. Género: Zea Especie: <i>Zea mays</i> .
--

Organismos donantes

Brevibacillus laterosporus: donante de la proteína Mpp75Aa1

Reino: Bacteria
Fila: Firmicutes
Clase: Bacilli
Orden: Bacillales
Familia: Paenibacillaceae
Género: *Brevibacillus*
Especie: *laterosporus*

Bacillus thuringiensis: donante de la proteína Vpb4Da2

Reino: Bacteria
Fila: Firmicutes
Clase: Bacilli
Orden: Bacillales
Familia: Bacillaceae
Género: *Bacillus*
Especie: *thuringiensis*

Diabrotica virgifera virgifera: donante de ARN DvSnf7.1 (ARni)

Reino: Animalia
Fila: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Coleoptera
Familia: Chrysomelidae
Género: *Diabrotica*
Especie: *virgifera*

2. Descripción de la modificación genética:

El maíz MON 95275 produce la proteína insecticida Mpp75Aa1.1 derivada de *Brevibacillus laterosporus*, la proteína insecticida Vpb4Da2 derivada de *Bacillus thuringiensis* (Bt) y un transcrito de ARN de doble cadena de una secuencia repetida invertida diseñada para coincidir con el gen Snf7 del gusano de la raíz del maíz (*Diabrotica virgifera virgifera*). Las proteínas Mpp75Aa1.1 y Vpb4Da2 combinadas con el ARN DvSnf7.1 brindan protección contra el daño causado por la alimentación de insectos coleópteros plaga específicos

El maíz MON 95275 contiene el gen Mpp75Aa1.1 que codifica la proteína Mpp75Aa1.1, que se deriva de la forma precursora completa de la proteína insecticida Mpp75Aa1 de *Brevibacillus laterosporus*. El maíz MON 95275 también contiene el gen Vpb4Da2 que codifica la proteína Vpb4Da2 y el organismo donador es *Bacillus thuringiensis* (Bt). La secuencia presente en el cassette de supresión DvSnf7.1 en MON95275 se diseñó para coincidir con el

gen presente en el gusano de la raíz (*Diabrotica virgifera virgifera*) que codifica la subunidad SNF7 del complejo ESCRT-III. La secuencia en MON 95275 utilizada para inducir el mecanismo de ARN de interferencia (ARNi) en el gusano de la raíz es la misma secuencia presente en el maíz MON 87411 previamente aprobada por ICA en Colombia en 2016.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Método usado para transformar la planta:

El evento maíz MON 95275 se desarrolló a través de la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* de embriones de maíz inmaduros utilizando el vector plásmido PV-ZMIR525664. Se extirparon embriones inmaduros de una mazorca de maíz postpolinizada de maíz convencional LH244. Después de cocultivar los embriones inmaduros extirpados con *Agrobacterium* portando el vector plásmido, los embriones inmaduros se colocaron en un medio de selección que contenía glifosato y sal disódica de carbenicilina para inhibir el crecimiento de células vegetales no transformadas y el exceso de *Agrobacterium*, respectivamente. Una vez que se desarrollaron los callos transformados, se colocaron en un medio propicio para el desarrollo de brotes y raíces. Las plantas enraizadas (R0) con características fenotípicas normales fueron seleccionadas y transferidas al suelo para su crecimiento y posterior evaluación (Giddings et al., 2021).

Las plantas R0 se autopolinizaron para producir semillas R1. Posteriormente, la población R1 se analizó para detectar la presencia del ADN-T y la ausencia de secuencias de la estructura del vector mediante un ensayo por PCR a nivel de constructo y análisis de hibridación Southern. Sólo las plantas homocigóticas positivas para el ADN-T y negativas para secuencias de la estructura del vector se seleccionaron para desarrollo posterior y sus progenies se sometieron a evaluaciones moleculares y fenotípicas adicionales.

Como es común para un proceso de producción y selección de eventos comerciales, se generaron cientos de diferentes eventos de transformación (regenerantes) en el laboratorio utilizando el plásmido PVZMIR525664.

Los eventos R2 seleccionados se cruzaron con una línea que expresaba la proteína recombinasa Cre y se examinaron para detectar la ausencia de los genes cp4 epsps y cre. Después de una cuidadosa selección y evaluación de estos eventos en el laboratorio, el invernadero y el campo, se seleccionó a MON 95275 como el evento principal con base en la eficacia superior de las características biotecnológicas, características agronómicas, fenotípicas y moleculares de acuerdo con un proceso general.

2. Diferencias del evento y Cultivar convencional:

Se realizó un análisis de composición en grano y forraje de maíz MON 95275 cultivado en cinco sitios representativos de regiones agrícolas típicas para la producción de maíz en Estados Unidos en 2019. Este análisis proporcionó una evaluación comparativa integral de los niveles de nutrientes clave, antinutrientes y metabolitos secundarios en grano y forraje de maíz MON 95275 y el control convencional. Las muestras de grano se analizaron para determinar la humedad y los niveles de nutrientes clave, incluyendo proximales, carbohidratos por cálculo, fibra, aminoácidos, ácidos grasos, minerales y vitaminas. Además, las muestras de grano se analizaron para determinar los niveles de los antinutrientes ácido fítico y rafinosa y los metabolitos secundarios ácido ferúlico, furfural y ácido p-cumárico. Las muestras de forraje se analizaron para determinar la humedad y los niveles de proximales, carbohidratos por cálculo, fibra y minerales. En total, se analizaron 78 componentes diferentes (9 en forraje y 69 en grano).

No hubo diferencias estadísticamente significativas para 54 de los 61 componentes analizados. De esos 61 componentes evaluados estadísticamente para MON 95275, siete componentes (ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido araquídico, calcio y vitamina B6, en grano) mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre MON 95275 y el control convencional. Para estos siete componentes, la diferencia media entre MON 95275 y el control convencional fue inferior al valor del rango (valor máximo menos el valor mínimo) del control convencional. Además, los valores medios de los componentes de MON 95275 estaban dentro de la variabilidad natural definida por el rango de los valores observados en la bibliografía y/o en la base de datos de composición de cultivos de ILSI (ILSI-CCDB).

Estos resultados respaldan la conclusión general de que MON95275 no contribuyó de manera importante a la variación en los niveles de componentes en el grano o forraje de maíz, y confirman la equivalencia composicional del maíz MON 95275 con el control convencional en los niveles de nutrientes, antinutrientes y metabolitos secundarios. Las diferencias estadísticamente significativas observadas no fueron significativas para la composición desde la perspectiva de la seguridad de los alimentos y piensos.

3. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto:

El MON95275 se produjo mediante la transformación de tejido de maíz mediada por *Agrobacterium* utilizando el vector de transformación PV-ZMIR525664. Este vector contiene un único ADN-T (ADN de transferencia), que está delineado por regiones de borde derecho e izquierdo. El ADN-T contiene el cassette de supresión DvSnf7.1 y los cassettes de expresión mpp75Aa1.1 y vpb4Da2. El ADN-T que se insertó inicialmente contenía un cassette del marcador seleccionable cp4 epsps flanqueado por dos secuencias de escisión dirigidas llamadas sitios lox. Después de que el MON 95275 se examinara y seleccionara como un transformante aceptable, el cassette del marcador seleccionable se escindió cruzando MON

95275 con una línea de maíz que expresaba la recombinasa Cre (la "línea Cre" se transformó con el vector PVZMOO513642).

Posteriormente, se utilizaron la segregación, selección y cribado para aislar aquellas plantas que contenían el cassette de supresión DvSnf7.1 y los cassettes de expresión mpp75Aa1.1 y vpb4Da2, y carecían del cassette del marcador seleccionable cp4 epsps y de cualquier secuencia del plásmido que contenía el gen cre, PV-ZMOO513642.

La caracterización del inserto de ADN en MON 95275 se realizó mediante una combinación de secuenciación, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y bioinformática. Los resultados de esta caracterización demuestran que MON 95275 contiene una copia del ADN-T, que contiene el cassette de supresión DvSnf7.1 y los cassettes de expresión mpp75Aa1.1 y vpb4Da2, que se hereda de manera estable a lo largo de varias generaciones y se segrega de acuerdo con los principios mendelianos.