RESUMEN SOLICITUD DEL ALGODÓN T-304-40 x GHB119 x COT102 PARA CONSUMO ANIMAL

A. INFORMACIÓN GENERAL

Nombre del solicitante BASF Química Colombiana S.A.	***Nombre del contacto*** Tiffany Grace Acuña Benavente
Dirección del solicitante Calle 99 # 69C - 32 Bogotá, Tel: 6322260	***Dirección del contacto*** Calle 99 # 69C - 32 Bogotá, Tel: 6322260
Nombre del producto (Identificador de OECD y otros nombre) **Identificador OECD:** BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8 x SYN-IR1Ø2-7 **Otros nombres:** T-304-40 x GHB119 x COT102, TwinLink Plus	
Objetivo de la solicitud. Aprobación uso del algodón T-304-40 x GHB119 x COT102 como alimento directo o como materia prima para la producción de alimentos de consumo animal.	
Aprobaciones y usos en otros países: El evento T-304-40 ha sido aprobado en Australia, Canadá, China, Unión Europea, Japón, Malasia, Nueva Zelanda, Filipinas, Taiwán y Estados Unidos para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento GHB119 ha sido aprobado en Argentina, Canadá, China, Unión Europea, Japón, Malasia, Nueva Zelanda, Filipinas, Federación, Corea del Sur, Taiwán y Estados Unidos para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento COT102 ha sido aprobado en Australia, Canadá, China, Costa Rica, Japón, México, Nueva Zelanda, Filipinas, Federación, Corea del Sur, Taiwán y Estados Unidos para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento T-304-40 x GHB119 ha sido aprobado en Argentina, Brasil, Canadá, Corea del Sur y Estados Unidos para consumo humano y/o animal y/o siembra. El evento T-304-40 x GHB119 x COT102 ha sido aprobado en Brasil para consumo humano, animal y siembra.	
Algún otro uso aprobado en el país: El evento T-304-40 x GHB119 x COT102 aún no tiene aprobación de uso en el país. Sin embargo, ya existe aprobación para algunos de los eventos individuales y/o combinaciones que lo componen.	

B. INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL OVM

1. Nombre de parentales y/o Donadores: Familia: Malvaceae Género: *Gossypium* Especie: *Gossypium hirsutum* Nombre común: Algodón Líneas: T-304-40, GHB119 y COT102.
2. *Descripción de la modificación genética:* El algodón evento T-304-40 x GHB119 x COT102 se desarrolló mediante el cruzamiento convencional de los eventos T-304-40, GHB119 y COT102, los cuales individualmente fueron producidos con el uso de la biotecnología moderna.

El algodón evento T-304-40 se desarrolló para expresar resistencia a algunos insectos lepidópteros y tolerancia al Glufosinato de Amonio, mediante la expresión de las proteínas Cry1Ab y fosfinotricina acetiltransferasa. El evento fue desarrollado con el método de transformación mediado por Agrobacterium, usando el plásmido pTDL008. Para ello se introdujo un fragmento o constructo con dos genes, el gen *cry1Ab* y el gen *bar*. Cada uno de estos genes se encuentra en el T-ADN introducido y constituye un casete de expresión, que contienen los elementos regulatorios propios para su expresión en el tejido vegetal. Aunque en el plásmido usado está presente el gen *aadA*, que le confiere tolerancia a estreptomicina y espectomicina, para la selección en *E. coli* y *A. tumefaciens,* en el evento T304-40 No se encontraron secuencias de este gen marcador, ni del *nptI*. El gen *cry1Ab* está controlado por el promotor constitutivo Ps7s7, copiado desde el promotor del virus del enanismo del trébol subterráneo (SOSV), la secuencia líder *5'e1* de *Oryza sativa*, y la secuencia *3'me1*, que es una señal de terminación del gen de la enzima NADP-málico de *Flaveria bidentis*. En el caso del gen *bar*, se usó el promotor P35S3, el cual proviene del promotor del virus del mosaico de la coliflor, y la región terminación 3' nos del gen *bar* de *A. tumefaciens*. En la caracterización molecular se encontró que el T304-40 tiene un único sitio de inserción, en el cual hay una copia intacta de los genes *cry1Ab* y *bar*, pero en el mismo sitio se evidenció la presencia de secuencias parciales del constructo del gen *cry1Ab*, pero que al final no se expresan porque no posee los elementos reguladores completos. La proteína Cry1Ab, es una “Proteína insecticida” producida de manera natural por la bacteria *B. thuringiensis*, que se produce durante la esporulación. Se activa de forma proteolítica en el intestino de larvas de lepidópteros y forma poros en las membranas del intestino de las especies sensibles. Esta proteína es específica en su actividad insecticida demostrando toxicidad en larvas de ciertas especies de Lepidópteros. La proteína de fosfinotricina-N-acetiltransferasa (PAT) expresada en este evento de algodón, es codificada por la secuencia del gen bar, la cual se derivó del actinomiceto del suelo *S. hygroscopicus*. Esta proteína o enzima acetila el grupo amino primario de la Lfosfinotricina, lo cual causa la inactivación de los herbicidas hechos a base de Glufosinato de Amonio.

El algodón evento GHB119 (BCS-GHØØ5-8) fue obtenido mediante trasformación de la variedad de algodón Coker312 con el plásmido pTEM2, utilizando *Agrobacterium tumefaciens*. Este evento fue originado para conferir tolerancia a glufosinato de amonio y algunos insectos lepidópteros, mediante la introducción del constructo que contenía los genes *bar* y *cry2Ae*. El gen *bar* codifica para la enzima fosfinotricina-N-acetiltransferasa (PAT), la cual se derivó del actinomiceto del suelo *Streptomyces hygroscopicus*. Esta proteína o enzima acetila el grupo amino primario de la L-fosfinotricina, lo cual causa su inactivación como herbicida, por lo que las plantas que lo contienen presenta la tolerancia a este tipo de herbicidas. El gen *cry2Ae* expresa la proteína Cry2Ae, que le confiere tolerancia a los daños ocasionados por ciertos insectos lepidópteros

El algodón evento COT102 fue producido por la transformación de hipocotílos del cultivar Coker 312, a través de *Agrobacterium tumefaciens.* Los genes insertados mediante el plásmido pCOT1 son *vip3Aa19* y *aph4*, estos codifican para las proteínas Vip3Aa19 y 4-fosfotransferasa (higromicina β-fosfotransferasa) respectivamente. El ADN introducido contiene el gen *vip3Aa1* que fue aislado de *B. thuringiensis* cepa AB88. Este gen codifica la proteína vegetal insecticida (Vip3Aa19) que es tóxica para algunos insectos como *Spodoptera frugiperda*, *S. exigua*, *Heliothis virescens*, *Helicoverpa zea* y *Agrotis ípsilon*. El gen sintético *vip3Aa19* usado en la transformación, está regulado por las secuencias de un promotor derivado del gen de la *actina*-2 de *Arabidopsis thaliana* y del primer exón e intrón

de la secuencia líder no-transcrita del mismo gen. Este promotor confiere expresión constitutiva de la proteína vip3Aa19, cuya secuencia de aminoácidos es idéntica a la de la proteína Vip3Aa nativa, con la excepción de una substitución única de Lisina por Glutamina en la posición 284, que no afecta la función de la proteína. La proteína Vip3Aa19 es una "Proteína insecticida" producida de manera natural por *B. thuringiensis*. A diferencia de las proteínas Cry, originadas por esta misma bacteria, que se producen durante la esporulación, las proteínas Vip3Aa19 y otras "proteínas insecticidas vegetativas" (*Vegetative Insecticidal Proteins* - VIPs) se producen durante el crecimiento vegetativo bacteriano y son secretadas como proteínas solubles en el ambiente extracelular. Aunque la proteína Vip3Aa19 se activa de manera similar a la forma como se activan las proteínas Cry1, de forma proteolítica en el intestino de larvas de lepidópteros y forma poros en las membranas del intestino de las especies sensibles, análisis adelantados con dichas proteínas, han demostrado que ellas no comparten homologías con las proteínas Cry conocidas.

C. INFORMACION RELACIONADA CON LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Método usado para transformar la planta:

El algodón evento T-304-40 x GHB119 x COT102 se desarrolló mediante el cruzamiento convencional de los eventos T-304-40, GHB119 y COT102, los cuales individualmente fueron producidos con el uso de la biotecnología moderna.

2. Diferencias del evento y Cultivar convencional:

En principio, el evento de algodón T-304-40 x GHB119 x COT102 es sustancialmente equivalente al algodón convencional.

En términos generales, este evento de algodón, no presenta diferencias biológicas significativas con respecto a los algodones convencionales. Los estudios de características agronómicas y nutricionales, muestran que no habría diferencias significativas entre el evento conjunto, los eventos individuales y los testigos convencionales.

La gran diferencia se basa en la expresión de cuatro proteínas transgénicas, que fueron introducidas por el cruce de los tres eventos transgénicos, las cuales son: Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3A(a) y PAT que le confieren resistencia al ataque de ciertos insectos lepidopteros y tolerancia a la aplicación del herbicida glufosinato de amonio.

3. Estabilidad genética y/o fenotípica del inserto

Análisis moleculares indican que los transgenes de cada uno de los eventos individuales (T-304-40, GHB119 y COT102), se ha integrado de forma estable en el genoma de la variedad T-304-40 x GHB119 x COT102.

Se realizaron análisis de *Southern Blot* o PCR para secuenciación usando tejido del evento T-304-40 x GHB119 x COT102 y de tejidos de cada uno de los eventos individuales. Las bandas de hibridación y de PCR obtenidas fueron las esperadas según análisis previos. Todas las bandas observadas corresponden a las presentadas por el respectivo evento simple, lo que indica que los insertos se han integrado de forma estable en la variedad.

En resumen, los análisis indican que cada uno de los insertos, presentes en cada uno de los eventos individuales, se han integrado de forma estable en el algodón evento T-304-40 x GHB119 x COT102.