PHI MÉXICO SA DE CV

INFORMACIÓN NO CONFIDENCIAL

Solicitud de Liberación Experimental al Ambiente de Maíz Genéticamente Modificado con los Eventos Apilados

DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6

en 1 Localidad en Matamoros, Coahuila; 2 en San Pedro de las Colonias, Coahuila; y 1 en Gómez Palacio, Durango

Para la Protección Contra Algunos Insectos Lepidópteros y con Tolerancia a los Herbicidas que Contienen el Ingrediente Activo Glifosato.

Noviembre del 2010

PHI México SA de CV
Carr. GDL-Morelia Km 21 No. 8601-B
Poblado de Nicolás R. Casillas
Tlajomulco de Zuñiga, Jal.
C.P. 45645 Tel. (33) 3679-7979

I. Nombre, denominación o razón social del promovente y, en su caso, nombre del representante legal;

Promovente:

PHI México S.A. de C.V.

IV. Modalidad de la liberación solicitada y las razones que dan motivo a la petición;

Con fundamento en los Artículos 42, 43, 70 y 71 de la LBOGM, y Artículos 5, 6 ,7 y 16 del Reglamento de la LBOGM se presenta la Solicitud de Liberación Experimental al Ambiente para maíz genéticamente modificado DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6 en 1 Localidad en Matamoros, Coahuila; 2 en San Pedro de las Colonias, Coahuila; y 1 en Gómez Palacio, Durango; durante el ciclo Primavera-Verano (P-V).

La presente Solicitud de Liberación Experimental al Ambiente tiene los siguientes objetivos:

Evaluar la Eficacia Biológica del evento MON-00810-6 en maíz DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 frente al ataque de insectos lepidópteros, bajo las condiciones en que se desarrolla el maíz en las localidades de Matamoros y San Pedro de las Colonias, Coahuila; y Gómez Palacio, Durango.

Generar datos que permitan estimar si la línea de maíz GM DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 ha alterado su equivalencia agronómica en comparación con su control no modificado.

Identificar las poblaciones de artrópodos presentes a lo largo del ciclo de cultivo del maíz GM DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 y su control no modificado.

Demostrar que los ensayos con maíz GM se pueden conducir de manera segura en México mediante la aplicación de las medidas de bioseguridad propuestas por la empresa y las que establezcan las autoridades competentes.

V. Señalar el órgano de la Secretaría competente, al que se dirige la solicitud;

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA).

VI. Lugar y fecha, y

Guadalajara, Jalisco; Noviembre del 2010.

VII. Firma del interesado o del representante legal, o en su caso, huella digital.

Ver escrito libre.

I) CARACTERIZACIÓN DEL OGM

a) Identificador único del evento de transformación.

Nombre científico: *Zea mays* L.
Nombre común: Maíz
Nombre Comercial: HX1xMON810 xRR2
Identificador Único de la OCDE: DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6.

El maíz 1507 fue generado por la inserción de un gen *cry*1F sintético truncado de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) var. *aizawai* y un gen para fosfinotricina acetiltransferasa (*pat*) aislado de *Streptomyces viridochromagenes*. La proteína Cry1F confiere resistencia a algunos insectos lepidópteros. La proteína PAT confiere tolerancia al ingrediente activo glufosinato de amonio.

El maíz MON810 fue generado por la inserción del gen *cry*1Ab, el cual fue aislado de *Bacillus thuringiensis.* La proteína Cry1Ab confiere resistencia a algunos insectos lepidópteros.

El maíz NK603 fue generado por la inserción de dos copias del gen *cp4 epsps* que codifica para la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) de *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4. La proteína CP4 EPSPS confiere tolerancia a los herbicidas con el ingrediente activo glifosato.

El maíz con el evento DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6 es un híbrido Pioneer™ resultante del cruce convencional de las líneas de maíz DAS-01507-1 y MON-00810-6 con resistencia a algunos insectos lepidópteros y la línea MON-00603-6 con tolerancia a herbicidas con el ingrediente activo glifosato.

b) Especies relacionadas con el OGM y distribución de estas en México

Ver punto (c)

c) Especificación de la existencia de especies sexualmente compatibles

El genero *Zea* incluye además del maíz otras especies silvestres conocidas colectivamente como teocintles. Los teocintles presentes en México son: *Zea diploperennis* y *Zea perennis*, dos especies perennes que se encuentran localizadas en algunas zonas del estado de Jalisco. Además existen subespecies de *Zea mays*, *Zea mays spp, mexicana*, un teocintle silvestre anual ampliamente distribuido en las regiones altas del centro de México y el *Zea mays spp. parviglumis*, un teocintle silvestre del sur y occidente de México (Figura 1). Existen otros teocintles silvestres: *Zea luxurians* y *Zea mays spp huhuetenangensis*, sin embargo estos no se han reportando en México. Todos los teocintles con excepción del tetraploide *Z. perennis* pueden cruzarse con el maíz para formar híbridos fértiles (Wikes, 1977, Doebley, 1990). Sin embargo estudios recientes indican que la dirección de la polinización en su gran mayoría es del teocintle (spp. *mexicana*) hacia el maíz (Baltasar et al, 2005) debido a la presencia de barreras genéticas de incompatibilidad (Evans y Kermicle, 2001) y factores físicos de las plantas de teocintle los cuales no permiten que el polen de maíz polinice los estigmas del teocintle.

Tabla 1. Lista de especies emparentadas con el maíz.
Poblaciones de teocintle en México y Guatemala que rara vez se presentan
en un solo lugar= ● Indeterminada= ■ Estable= ▲ Poca= ◯ Garrison, H.1995.

Población y su estado	Nombre común	Lugar	Extensión	Hábitat
Nabogame ●	maicillo.	Valle Tarahumara en la Sierra Madre del estado de Chihuahua, unos 16 km al noroeste de Guadalupe y Calvo.	No más de 30 km^2 en el fondo del valle.	A lo largo de los márgenes de las milpas y en los bosquecillos de sauces que bordean las corrientes de agua.
Durango ●	maicillo.	Valle de Guadiana, a 10 km de Durango, en el estado de Durango.	No más de 20 km^2.	Limitado a las tierras no cultivadas a lo largo de los canales de riego.
Mesa Central ■	maíz de coyote.	Poblaciones aisladas en toda la meseta central en Jalisco, Michoacán y Guanajuato. La población continua más grande está en la región al norte del lago Cuitzeo.	En la antigüedad fue una población continua que abarcaba miles de kilómetros cuadrados, pero ahora existe en áreas aisladas dispersas, que rara vez tienen más de 10 km^2	Se presenta en los campos cultivados y a lo largo de éstos o en las áreas cercadas protegidas del pastoreo
Chalco ■	accece o acece (inconveniente o desagradable).	Valle de México desde Amecameca hasta Xochimilco, Chalco y Los Reyes. Poblaciones aisladas alrededor de Texcoco.	La población principal se concentra en un área de 300 km^2 alrededor de Chalco. La semilla ha viajado a Toluca y Puebla en el estiércol del ganado lechero.	Se le encuentra casi exclusivamente en las milpas como una "imitación" del maíz, pero también como maleza a lo largo de los caminos.
Balsas ▲	maíz de huiscatote (correcaminos). maíz de pájaro, atzintzintle.	Los cerros que rodean la cuenca del río Balsas. La población está distribuida en forma discontinua, con una parte situada al sur de Chilpancingo, en el estado de Guerrero, y la otra en el borde septentrional de la cuenca, extendiéndose en Michoacán y la costa de Jalisco.	La población al sur de Chilpancingo abarca cientos de kilómetros cuadrados, mientras que la otra se extiende por miles de kilómetros cuadrados en los estados de Guerrero, Michoacán y México.	A veces se le observa en las milpas, pero en general se le encuentra en las densas laderas, especialmente a lo largo de las barrancas u otras áreas donde hay escurrimiento de la lluvia. Coloniza con éxito las milpas en barbecho. Los alambrados de púas y el ganado están cambiando este hábitat.
Oaxaca ●	Cocoxie (correcaminos)	San Francisco de Honduras, a 5 km de San Pedro Juchatengo, en la Sierra Madre del sur de Oaxaca.	No más de 20 km^2, aunque pueden existir áreas aisladas externas. Es preciso explorar más el estado de Oaxaca para detectar poblaciones.	Crece en las laderas y en las milpas que rodean al pueblo.
Huehuetenango ◯	milpa de rayo, salic.	Cerros y valles del departamento de Huehuetenango alrededor del pueblo guatemalteco de San Antonio Huista, cerca de la frontera con México.	Probablemente no más de 300 km^2.	Se le encuentra a lo largo de los senderos, en los campos y en las laderas con milpas en barbecho. Las cercas de alambre de púas y el ganado han cambiado radicalmente este hábitat.
Guatemala ◯	milpa silvestre, teocintle.	Distribuido en forma discontinua en el sureste de Guatemala en los cerros y valles de Jutiapa, Jalapa y Chiquimula.	Una vez estuvo distribuido en forma continua y abarcaba 500 ó más km^2, pero ahora la distribución es fragmentada y la población más grande abarca cuanto más 1 km^2.	Se presenta en pequeños sitios aislados a lo largo de los campos o en otras áreas protegidas del pastoreo.

Tamaño de las poblaciones: Balsas > Mesa Central > Chalco > Nabogame > Durango = Oaxaca.
Necesidad más importante: Más exploración en Oaxaca y Chiapas.

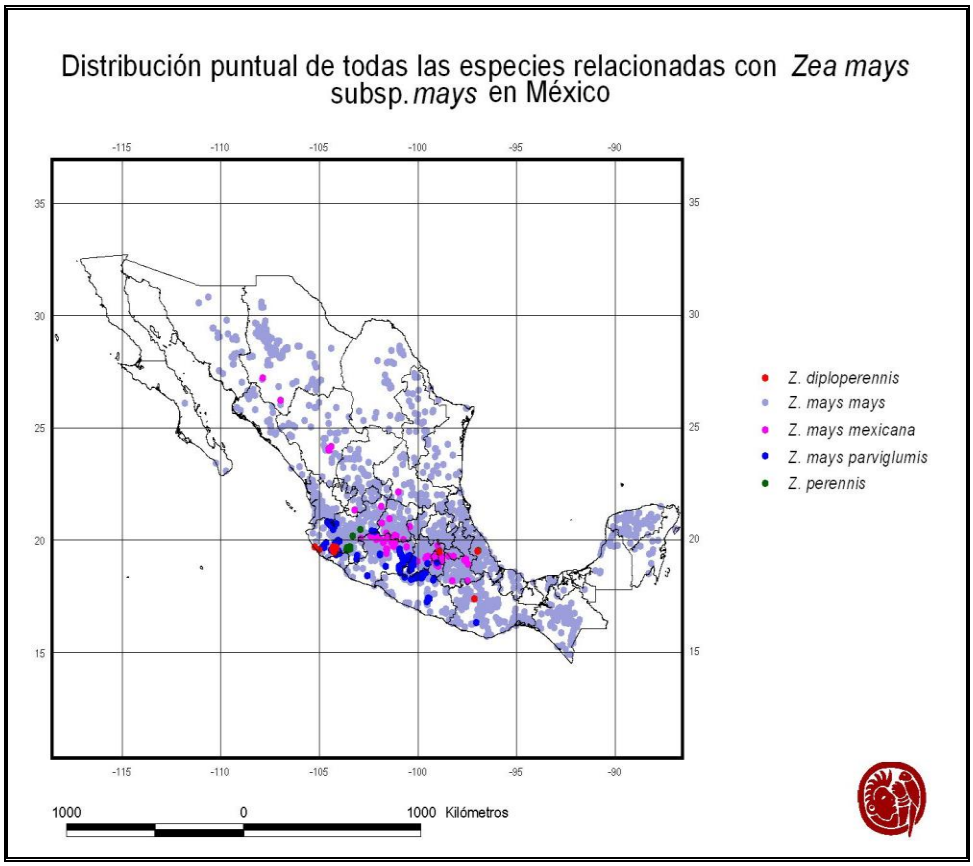


Figura 1. Distribución Puntual de todas las especies relacionadas con Zea mays subsp mays en México.

Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM). Proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad www.conabio.gob.mx

Otro pariente cercano del género *Zea* es el *Tripsacum*, un género de siete especies, todas las cuales se pueden cruzar artificialmente con *Zea*. Sin embargo la progenie resultante de estas cruzas es generalmente estéril.

Sólo *Z mays* spp*. mexicana* forma híbridos frecuentes con el maíz. Incluso donde el teocintle y el maíz crecen en la misma localidad y forman híbridos, cada uno de ellos mantiene las constituciones genéticas distintas, lo que sugiere que sería muy raro que llegase a ocurrir una introgresión, y en muy contadas ocasiones da lugar a cambios que se pueden mantener en cualquier población. Por ejemplo, los híbridos que se forman entre el teocintle y el maíz producen espiguillas que no tienden a dispersar la semilla y que son, por lo tanto, altamente seleccionadas considerando su naturaleza.

La evidencia molecular reciente ha confirmado que existe cierto flujo genético limitado entre el maíz y el teocintle lo cual puede ocurrir en cualquier dirección, pero que se presenta a una frecuencia muy baja (Doebley 1990). Incluso si el polen genéticamente modificado fuese a fertilizar el teocintle para formar un híbrido viable, cualquier gen del maíz deberá conferir una ventaja selectiva muy fuerte sobre los teocintles silvestres a fin de continuar en la población de teocintle. La resistencia a las plagas de lepidópteros, tales como el barrenador del tallo, es poco probable que confiera esa ventaja selectiva tan fuerte, especialmente debido a que la resistencia a los insectos herbívoros es común entre las especies silvestres. Además, los fitomejoradores han hecho adelantos importantes en el desarrollo de híbridos de maíz comerciales con mayor resistencia a los insectos (Dicke y Guthrie 1988). Estos híbridos han estado ampliamente disponibles en América del Norte pero no ha habido un incremento perceptible en la conveniencia del teocintle.

d) Descripción de los hábitats donde el OGM puede persistir o proliferar en el ambiente de liberación

El maíz (*Zea mays* L.) es una gramínea originaria y domesticada en México y se ha cultivado en Norteamérica por miles de años (CFIA, 1994). En la actualidad el maíz se siembra en la mayoría de los países del mundo y es el tercer cultivo de importancia económica a nivel mundial (después del trigo y el arroz)**.**

Bajo condiciones climáticas adecuadas o mediante el aporte del riego, el maíz es muy productivo, y aunque es originario de zonas semiáridas, las variedades mejoradas actuales sólo resulta rentable cultivarlas en climas con precipitaciones suficientes o bien en regadío. Puede crecer en zonas desde el nivel del mar hasta los 4000 metros, en una gran variedad de suelos. Requiere un clima relativamente cálido y agua en cantidades adecuadas; la mayoría se cultivan en regiones de temporal, de clima caliente y de clima subtropical húmedo. En temporal se siembra de abril a junio y su desarrollo se prolonga hasta agosto o septiembre.

Sin embargo al ser el maíz una planta altamente domesticada, esta no puede proliferar sin los cuidados necesarios que requiere como cultivo.

Cruzamiento con el maíz cultivado: Durante las épocas de siembra, es probable que otras compañías semilleras o agricultores siembren maíz en los alrededores de los sitios, existiendo la posibilidad de entrecruzamiento. Sin embargo, debido a todas las medidas de bioseguridad que se utilizarán en los experimentos, se eliminará la posibilidad de transferencia de material genético de los ensayos propuestos a campos de agricultores locales.

Cruzamiento con especies silvestres: El género *Zea* incluye, además del maíz, otras especies silvestres, conocidas colectivamente como teocintles. Los teocintles presentes en México son: *Zea diploperennis* y *Zea perennis*, dos especies perennes que se encuentran localizadas en el Estado de Jalisco. Además, existen subespecies de *Zea mays; Zea mays* ssp, mexicana, un teocintle silvestre anual ampliamente distribuido en las regiones altas del centro de México y el *Zea mays* spp. *parviglumis*, un teocintle silvestre del sur y occidente de México. Existen otros teocintles silvestres: *Zea luxurians* y *Z. mays* spp. Huehuetenangensis. Todos los teocintles, con excepción del tetraploide *Z. perennis*, pueden cruzarse con el maíz para formar híbridos fértiles (Wilkes, 1977; Doebley, 1990). Sin embargo, estudios recientes indican que la dirección de la polinización en su gran mayoría es del teocintle (ssp. mexicana) hacia el maíz (Baltazar et al, 2005), debido a la presencia de barreras genéticas de incompatibilidad (Evans and Kermicle, 2001) y factores físicos en las plantas de teocintle los cuales no permiten que el polen del maíz polinice los estigmas del teocintle (Baltazar and Schoper, 2001 y 2002; Baltazar et al., 2003). Otro pariente cercano al genero *Zea* es el Tripsacum, un género de siete especies, todas las cuales se pueden cruzar artificialmente con *Zea*. Sin embargo, la progenie resultante de estas cruzas es generalmente estéril.

e) Descripción taxonómica del organismo receptor y donador de la construcción genética

<u>Organismo receptor</u>

Nombre Común: Maíz
Nombre Científico: *Zea mays* L.
Clase: Angiosperma
Subclase: Monocotiledónea
Orden: Graminales
Familia: Poaceae
Subfamilia: Panicoideae
Tribu: Maydeae
Genero: Zea
Especie: mays

Organismos donadores

Agrobacterium tumefaciens
Agrobacterium tumefaciens Cepa CP4.
Arabidopsis thaliana
Bacillus thuringiensis var. *aizawai*
Bacillus thuringiensis subsp. *kurstaki*
Streptomyces viridochromogenes
Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV)
Zea mays L.

f) País y localidad donde el OGM fue colectado, desarrollado o producido

La línea apilada DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 y la línea parental DAS-01507-1 han sido desarrolladas conjuntamente por Dow AgroSciences LLC ubicada en 9330 Zionsville Road Indianapolis, IN U.S.A. y Pioneer Hi-Bred International ubicada en 7100 NW 62nd Ave. P.O. Box 1014, Johnston, I.A. U.S.A. Las líneas parentales MON-00810-6 y MON-00603-6 fueron desarrolladas por Monsanto Company (USA). La línea apilada es un híbrido creado a través de métodos tradicionales de cruzamiento de las líneas 1507, MON810 y NK603.

Pioneer Hi-Bred International, Inc.
7100 NW 62nd Avenue
P.O. Box 1014
Johnston, IA
U.S.A.

g) Referencia documental sobre origen y diversificación del organismo receptor

Aylor, D., Baltasar, M.B. and Schoper J. 2005. Some physical properties of Teosinte (*Zea mays* subs. *Parviglumis*) Pollen. J. Exp Bot 56:2401-2407 .

Baltazar M.B., Sánchez-González, J.J., De la Cruz-Larios, L. and Schoper, J. 2005. Pollination between maize and teosintle: an important determinant of gene flow in México. Theor Appl Genet. 110:519-526.

CFIA. 1994. Regulatory Directive Dir 94-11: The Biology of Zea mays L. (Corn/Maize) (Biología del Zea mays l. Canadian Food Inspection Ag., Plant Products Div., Plant Biotechnology Office, Ottawa.

Cornell University 1996. Bacteria. In: Biological control: A guide to natural enemies in North America. Weeden, Shelton and Hoffmann (eds). Cornell University, Ithaca, NY (Http://Www.Nysaes.Cornell.Edu/Ent/Biocontrol/Pathogens/Bacteria.Html).

Doebley, J. 1990. Molecular evidence of gene flow among Zea species. BioScience 40:443-448.

Doebley, J. 2004.The genetics of maize evolution. Annu Rev Gen. 2004;38:37-59.

OECD. 1999. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11.

Eckardt, N.A. 2003. Maize genetics 2003. Meeting Report. The Plant Cell Rep. 15 (5) 1053-1055.

Evans, M.M.S. and Kermicle, J.L. 2001. Teosinte crossing barrier1, a locus governing hybridization of teosinte with maize. Theor Appl Genet 103:259-265.

OECD. 1999. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11.

Merritt, C.R. 1998. The commercialization of transgenic crops – the Bt experience. In: Biotechnology in crop protection: Facts and fallacies. 1998 BCPC Symposium Proceedings, 71, pp. 79-86.

Wilkes, H.G. 1977. Hybridization of maize and teosinte in Mexico and Guatemala and the improvement of maize. Econ Bot 34:254-293.

Weber A, Clark RM, Vaughn L, Sánchez-Gonzalez Jde J, Yu J, Yandell BS, Bradbury P, Doebley J.2007. Major regulatory genes in maize contribute to standing variation in teosinte (*Zea mays ssp. parviglumis*). Genetics. 177(4):2349-59.

h) Descripción de las secuencias flanqueantes, número de copias insertadas, y los resultados de los experimentos que comprueben los datos anteriores, así como la expresión de mensajeros del evento de transformación genética, incluyendo la demostración de los resultados.

Expresión de mensajeros

Se prueba que el maíz DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 no contiene transcritos quiméricos al sustentar el adecuado patrón de integración del inserto, la equivalencia de las regiones borde y el tamaño de bandas esperadas para cada gen, usando combinaciones de sondas y enzimas de restricción para caracterizar los genes insertados (*cry*1F, Cry1Ab, *pat* y *cp4 epsps*).

El ARN es producto primario de la expresión de los genes y tiene roles esenciales en la síntesis de proteínas. Su papel central en la función celular y desarrollo es la decodificación de información del DNA dentro de las proteínas. El ARN mensajero codifica las secuencias de aminoácidos de las proteínas. El ARN de transferencia actúa como adaptador para traducir los codones del ARNm (Buchanan, Gruissem and Jones, 2000)[1].

Las proteínas producidas por los eventos DAS-01507-1, MON-00810-6 y MON-00603-6 en el evento apilado DAS-1507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 son el producto de la expresión de los ARN mensajeros, puesto que su función es la de decodificar para la secuencia de los aminoácidos que componen las proteínas Cry1F, PAT, Cry1Ab y CP4 EPSPS al medir y comparar la concentración de dichas proteínas expresadas en maíz DAS-1507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 se cuantifica de manera indirecta la expresión de los ARN mensajeros, por lo que no es necesario realizar su caracterización (Buchanan, Gruissem and Jones, 2000).

[1]Buchanan, B. B., Gruissem, W. and Jones L. R. 2000. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plants Physiologists. 294 and 298

i) Mapa de la construcción genética, tipo de herencia de los caracteres producto de los genes insertados, expresión de las proteínas y localización de las mismas

Tipo de herencia de los caracteres producto de los genes insertados

EVENTO DAS-01507-1

Los resultados del análisis de la segregación Mendeliana proporcionan evidencias de la herencia estable del material genético introducido. La segregación Mendeliana de la línea *Bt* Cry1F 1507 fue realizada y analizada en dos etapas (ver Figura 11). La línea de maíz Hi-II original transformada conteniendo el evento TC 1507, fue cruzada con una línea homocigota elite para producir la semilla F1. La semilla F1 fue retrocruzada a la línea homozigota dos veces mas para producir la semilla BC2F1. La aplicación del herbicida glufosinato en cada generación ayudo a eliminar las plantas susceptibles y obtener semilla homocigota.
Fue sembrada la semilla de la generación BC2F1, y se le aplico glufosinato. La segregación esperada fue de 1:1 (resistente: susceptible) para tolerancia a glufosinato. En la Tabla 5 se ilustran los resultados de la línea BC2F1.

A continuación se describe la segregación en generaciones subsecuentes: después de tres retrocruzas, semilla de la línea *Bt* Cry1F 1507 (BC3F1) fue sembrada y polinizada. Se espera que la semilla resultante (BC3F2) contenga 3 partes resistentes y una parte susceptible. Luego, fue sembrada y asperjada con glufosinato para remover las plantas homocigotas susceptibles. Las plantas remanentes (una parte homocigota resistente y dos partes heterozigotas resistentes) fueron cruzadas a una línea susceptible para hacer la semilla F1. Esta semilla fue

sembrada y asperjada con glufosinato para confirmar la segregación esperada, 2:1 resistente: susceptible. Los resultados de la línea F1 se presentan en la Tabla 5.

Después de que los híbridos fueron asperjados con glufosinato y de registrar su resistencia, 200 larvas del gusano barrenador Europeo fueron utilizadas para infestar cada planta F1 sobreviviente a la aspersión del glufosinato. Todas las plantas que mostraron tolerancia al herbicida glufosinato fueron también resistentes al ataque del gusano barrenador Europeo. Estos resultados indican que el evento TC 1507 es una inserción estable y es heredada en forma Mendeliana como un gen dominante. Los resultados de los análisis Southern indicando que el gen parcial *cry*1F esta presente en plantas de la retrocruza BC4, apoya la conclusión que esta genéticamente ligado a copias completas de los genes *cry*1F y *pat* presentes en la línea de maíz *Bt* Cry1F 1507. Análisis adicionales Southern de aproximadamente 20 plantas de una serie de líneas homocigotas confirmaron que ambas copias del gen *cry*1F están presentes en las plantas utilizadas en la prueba.

Expresión de las proteínas y su localización

Gen *cry1*F

El gen *cry*1F codifica para la síntesis de la proteína Cry1F, que actúa por unión selectiva a los sitios específicos localizados en el revestimiento del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Posterior a la unión, se forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio, causando parálisis intestinal y finalmente la muerte por septicemia bacteriana. Cry1F es letal sólo cuando es consumida por las larvas de algunos insectos lepidópteros y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos objetivo. No hay sitios de unión para para delta-endotoxinas de *B. thuringiensis* en la superficie de las células intestinales de mamíferos, por lo tanto, el ganado y los seres humanos no son susceptibles a estas proteínas.

Gen *pat*

La proteína fosfonitrocina acetaliza (PAT), confiere tolerancia a una forma de fosfinotricina sintetizada como la del glufosinato de amonio. Mediante el proceso de acetilación, fosfinotricina se convierte en una forma inactiva que no es toxica a las plantas de maíz. Glufosinato de amonio es un herbicida no-selectivo, no sistémico y de amplio espectro. Las plantas de maíz tolerantes al glufosinato de amonio pueden ser fácilmente identificadas en el campo a través de aplicaciones foliares del herbicida. Más detalles en este tema se puede encontrar en el documento concentrado acerca de los genes y sus proteínas que confieren tolerancia al herbicida fosfinotricina publicado por el OECD (OECD, 1999).

Ver localización del gen *cry*1F y *pat* en el Mapa de la Inserción en la Figura 4

Gen *cry*1Ab

El gen *cry*1Ab produce una versión truncada de la proteína insecticida, Cry1Ab, derivada del *Bacillus thuringiensis*. Delta-endotoxinas, como la proteína Cry1Ab expresada en MON810, actuan de forma selectiva la unión a sitios específicos localizados en el epitelio del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Trasla unión, cationes específicos forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio y por tanto causa parálisis y la muerte del insecto. La proteína Cry1Ab es insecticida sólo con algunos insectos lepidópteros, y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos blanco.*

Gen CP4 *epsps*

El gen codifica para una forma tolerante a glifosato de la enzima 5-sintasa enolpyruvlyshikimate-3-fosfato (EPSPS) que fue aislado de la bacteria del suelo *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4. El glifosato se une

específicamente al la enzima EPSPS y la inactiva; la enzima EPSPS participa en la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina y triptófano, y está presente en todas las plantas, bacterias y hongos.*

*CERA. (2010). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database

j) Descripción del método de transformación

EVENTO APILADO DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6

El maíz con el evento DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6 es un híbrido Pioneer™ resultante del cruce convencional de las líneas de maíz DAS-01507-1 con resistencia a algunos lepidópteros, la línea MON-00603-6 con tolerancia a herbicidas con el ingrediente activo glifosato y la línea MON-00810-6 con resistencia a algunos lepidópteros.

k) Rutas metabólicas involucradas en la expresión del transgen y sus cambios

EVENTO DAS-01507-1

El gen cry1a2, aislado de la bacteria común del suelo *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) var. *aizawai,* produce la proteína insecticida Cry1F, una delta-endotoxina. De las proteínas Cry, solo Cry1F actúa por unión selectiva a los sitios específicos localizados en el revestimiento del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Posterior a la unión, se forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio, causando parálisis intestinal y finalmente la muerte por septicemia bacteriana. Cry1F es letal sólo cuando es consumida por las larvas de algunos insectos lepidópteros y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos blanco. No hay sitios de unión para para delta-endotoxinas de *B. thuringiensis* en la superficie de las células intestinales de mamíferos, por lo tanto, el ganado y los seres humanos no son susceptibles a estas proteínas.

Muchas δ-endotoxinas naturales son producidas como inclusiones cristalinas para-esporas conteniendo proto-toxinas de un tamaño aproximado de 120-140 kDa (Schnepf *et al*. 1998). Al momento de ser ingeridas por insectos susceptibles, esta clase de proto-toxinas se disuelven en el intestino del insecto y con ayuda del medio alcalino y ciertas proteasas son liberadas las toxinas activas presentes en la parte terminal de la molécula. Las toxinas activadas tienen un tamaño aproximado de 65-70 kDa. El proceso de intoxicación se inicia al momento en que las toxinas se adhieren a receptores específicos en el intestino medio del insecto las cuales finalmente se insertan dentro de la membrana. Acto seguido la toxina se oligomeriza produciendo orificios pequeños en las células de la membrana del intestino medio provocando que las células se rompan ocasionando la muerte del insecto.

La parte terminal, de las δ-endotoxinas Cry1F, resistente a las proteasas se compone de tres estructuras (Grochulski *et al*., 1995). Estructura 1, la formadora de poros, consiste de un grupo de siete hélices-α anti paralelas en las cuales la hélice 5 se encuentra encerrada por el resto de las hélices. La Estructura 2, consiste de tres hojas-β antiparalelas unidas en un tipo de "llave griega". Los espirales provenientes de la estructura 2, son responsables de unir o ligar los receptores en el insecto con las toxinas (Tabashnik *et al.* 1996). La estructura 3, es un sándwich-β formado de dos hojas antiparalelas-β. Esta estructura es responsable de estabilizar la toxina y estudios recientes indican que la estructura 3 también esta relacionada con la unión o atracción de la toxina con los receptores presentes en el sistema digestivo del insecto. (De Maagd *et al.* 1996; Lee *et al.* 1995; Bosch *et al.* 1994).

La fosfinotricina, el ingrediente activo del herbicida glufosinato de amonio, inhibe la enzima glutamina sintetasa de la planta, lo que resulta en la acumulación de los niveles letales de amoníaco en las plantas sensibles dentro

de las horas de aplicación. Cabe mencionar que el amoníaco es producido por las plantas como resultado de procesos metabólicos normales (CFIA, Oct 2002)

Se ha reportado que la proteína PAT muestra una muy alta especificidad de sustrato contra el L-glufosinato, el ingrediente activo del herbicida glufosinato de amonio, sin embargo no selecciona por sustrato al D-glufosinato, un isómero óptico del L-glufosinato. Por consiguiente, ni las proteínas Cry ni las proteínas PAT interfieren en las rutas metabólicas del organismo receptor.

El gen de tolerancia al glufosinato de amonio insertado en el maíz con la línea 1507xMON810xNK603 codifica para la enzima fosfinotricina acetiltransferasa (PAT). Esta enzima desintoxica la fosfinotricina por acetilación en un compuesto inactivo. La fosfinotricina acetiltransferasa tiene una alta especificidad de sustrato y los datos incluidos en la solicitud demuestran que no acetilan otras enzimas o proteínas.

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

l) Productos de degradación de la proteína codificada por el transgen en subproductos

EVENTO DAS-01507-1

Cry1F

Se determinó la dependencia del tiempo en la pérdida de la biodisponibilidad de la proteína tras la incorporación Cry1F en un suelo típico de cultivo de maíz esta se determinó en condiciones de laboratorio (Halliday, 1998). Los resultados de este estudio indican que cuando la proteína Cry1F se aplica el suelo muestra una disminución 20 veces mayor en la actividad biológica en los 28 días de periodo de prueba. La estimación de la DT_{50} fue 3.13 días.

La proteína Cry1F ha mostrado que se degrada fácilmente en el medio ambiente. Se encontró en los experimentos de degradación de la proteína Cry1F en los suelos, que tiene un valor de DT50 (tiempo para degradar el 50% de las propiedades insecticidas originales), de 3.13 días. Las proteínas alergénicas son normalmente resistentes a la digestión y el tratamiento térmico, a diferencia de la proteína Cry1F que ha demostrado que se degrada fácilmente en el fluido gástrico simulado (digerido dentro de 1 minuto a una proporción molar de 1:100 Cry1F: pepsina), y se desactiva después de la exposición a 75°C durante 30 minutos (CFIA, Oct 2002).

Se realizó un estudio adicional para investigar el potencial de digestión de la proteína Cry1F bajo condiciones simuladas gastrointestinales (Evans, 1998). La digestibilidad del material se determinó usando el método *in vitro* gastrointestinal en vertebrados, mediante exposición de la proteína en concentraciones que oscilaron de 1:1 pepsina: Cry1F a 1:1,000,000 pepsina:Cry1F. Convertido a molaridad, este corresponde a rangos de 1:2 a 1:1, 883,000, respectivamente. A molalidades de 1:100, una proteolisis completa de la proteína Cry1F ocurre dentro de cinco minutos. La proteína Cry1F fue proteolizada a aminoácidos y péptidos pequeños. Se puede concluir con estos resultados que la proteína Cry1F es muy susceptible a la digestión en condiciones gástricas simuladas en la presencia de pepsina.

Producción de aleloquímicos

Con la intención de descartar la posible producción de cualquier nuevo aleloquímico en el maíz con la línea 1507 que puedan ser secretadas de las raíces y tener un efecto adverso en el entorno de plantas, fue cultivada lechuga en el suelo residual utilizado en los campos de pruebas aislados para el cultivo del maíz con la línea 1507 y maíz no recombinante, en donde se examinaron la tasa de germinación y el crecimiento. Como resultado de ello, para la tasa de germinación, en los dos híbridos examinados, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre las parcelas de las tierras plantadas con la recombinante y la no-recombinante. Para el peso fresco de las lechugas, en una variedad, se observó una diferencia significativa ($p = 0,033$) (parcela recombinante: 0.63g, la parcela no-recombinante: 0.43g). Sin embargo, basándonos en el hecho de que no se observó diferencia significativa de la tasa de germinación, el crecimiento de la lechuga en la parcela recombinante no era necesariamente lenta o insuficiente, y no se observó diferencia significativa en la otra variedad, por lo tanto se consideró que el gen introducido no causa la producción de cualquier sustancia nociva inesperada. Para su confirmación, se realizó la prueba sobre la base del método de Sandwich para identificar los efectos de las raíces de maíz con la línea 1507 y el maíz no-recombinante en la tasa de germinación, la longitud de la radícula, y la longitud de hipocotilo de la lechuga. Como resultado, en todos los elementos examinados, se observó que no hay diferencia estadísticamente significativa entre el recombinante y el no-recombinante (JBCH, 2002).

Basándose en los resultados descritos anteriormente, se confirmó que la línea 1507 no implica la producción de cualquier aleloquímico en el cuerpo en la planta que sean secretadas de las raíces y que pueden afectar a plantas de los alrededores (JBCH, 2002).

Además, como resultado de la prueba no se observaron diferencias sobre el número de hongos filamentosos, el número de bacterias, y el número de actinomices en el suelo utilizado para el cultivo del maíz con la línea 1507 y el maíz no-recombinante. Sobre la base de este resultado, se confirmó que el maíz con la línea 1507 no implica la producción de sustancias nocivas en el cuerpo de las plantas que sean secretadas de las raíces y pueden afectar a los microorganismos en el suelo (JBCH, 2002).

Se examinaron también los posibles efectos de las plantas de maíz muerto sobre otras plantas basados en los resultados de las pruebas de campo aislado realizadas en Japón, estas pruebas se evaluaron utilizando el método de *Sandwich*, y se llevaron a cabo también un total de 46 experimentos de campo en los EUA. En las pruebas de campo aisladas, se utilizó tierra preparada con la adición de los residuos de la línea 1507 y tierra con los residuos de la planta de maíz no recombinante, luego entonces se utilizó la lechuga como planta prueba de la cual se evaluó la tasa de germinación y crecimiento. Como resultado de ello, no se observaron diferencias estadísticamente significativas para la tasa de germinación de las dos variedades de los híbridos evaluados (JBCH, 2002).

Además, en los 46 experimentos de campo realizados en EE.UU., los *breeders* visitaron los campos en el siguiente año de cultivo para la observación de posibles efectos. Como resultado de la observación, en todos los campos utilizados para el cultivo del maíz con la línea 1507, no se observó un efecto aparente en el crecimiento de los cultivos que pudieran ser atribuidas al cultivo del maíz recombinante (JBCH, 2002).

PAT

La proteína PAT fue analizada para digestibilidad *in vitro* utilizando fluidos gástricos simulados conteniendo pepsina proteolítica (Glatt, 1999). Para cada punto en tiempo, 8 µg de la proteína PAT fueron mezclados con líquido gástrico simulado (pH 2.0) conteniendo aproximadamente 0.3% pepsina (peso/volumen). Proteínas y fragmentos digeridos (si presentes) que fueron separados electroforeticamente y visualizados con azul de Comassie en el gel. Bajo condiciones de este estudio, la proteína microbiana PAT fue completamente digerida en cinco segundos bajo condiciones gastrointestinales simuladas indicando muy poca estabilidad del ambiente simulado gastrointestinal. (EFSA)

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

m) Patogenicidad o virulencia de los organismos donadores y receptores

EVENTO DAS-01507-1

El maíz (*Zea mays* L.) no es un organismo patogénico y su domesticación como cultivo agrícola es de una larga historia. Además, el maíz no presenta anti-nutrientes reconocidos que se consideren nocivos para el medio ambiente para la salud animal y humana (White y Pollak, 1995).

La fuente del gen cry1F es *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), un grupo diverso de bacterias formadoras de esporas Gram positiva. Las proteínas *Bt* han sido utilizadas por varios años en agricultura para el control de insectos**.** Las proteínas *Bt* han demostrado ser específicas para el control de ciertas especies lepidópteras, pero no tóxicas a humanos o animales.

Las especies de *Bacillus thuringiensis* no tienen antecedentes de causar alergias. En los casi 30 años de su uso comercial, no se han presentado reportes de alergenicidad a *Bt* (EPA, 1995). Las formulaciones microbianas a base de *Bt* han sido utilizadas en un gran numero de cultivos que incluyen, vegetales frescos, y hasta el momento no ha habido reportes de alergenicidad. Esto establece que la proteína CryIF no tiene riesgo de producir alergias.

La fuente del gen *pat* es *Streptomyces viridochromogenes*. *S. viridochromogenes* es una bacteria presente comúnmente en el suelo que no es patogénica a humanos. Más aún, a esta bacteria no se le conoce como un alergeno (Van Wert, 1994).

El Virus del Mosaico de la Coliflor es un caulimovirus de ADN con un rango de huéspedes principalmente restringido a plantas crucíferas (Base de datos ICTV, 1998). Las secuencias de ADN que se originan a partir del Virus del Mosaico de la Coliflor, el promotor 35S y el terminador, no presentan características patogénicas (USDA, 1995).

Agrobacterium tumefaciens bacteria comúnmente encontrada en el suelo; no se considera patogénica para humanos y animales (Valentine, 2003).

<u>Alergenicidad</u>

El potencial alergénico de los productos de los genes fue analizada comparando la homología de las proteínas Cry1F y PAT con secuencias de alergénicos (Meyer, 1999) usando métodos aceptados (Meyer, 1999). No se encontró homología significativa con alergénicos conocidos. Una conclusión similar fue determinada previamente para la proteína PAT (Van Wert, 1994). Ni *B. thuringiensis* (la fuente del gen *cry1F*) ni *S. viridochromogenes* (la fuente del gen *pat*) tienen historial de causar alergias. En casi 30 años de uso comercial, no habido reportes de alergenicidad a *Bacillus thuringiensis* (EPA, 1995). Estas formulaciones se han utilizado en

un gran número de cultivos, incluyendo vegetales frescos, sin ningún reporte de alergenicidad. Esto establece las bases para determinar la falta de alergenicidad de la proteína Cry1F.

Toxicidad

El estudio de toxicidad de la proteína Cry1F en humanos y animales fue realizado en estudio oral-agudo (Kuhn, 1998). La δ-endotoxina de la proteína Cry1F aislada de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* fue evaluada en ratones. Es necesario utilizar una fuente de Cry1F microbiana por ciertos estudios toxicológicos debido a los bajos niveles de expresión de la proteína en plantas de maíz. La proteína Cry1F fue producida en la cepa Pseudomonas MR872. La equivalencia bioquímica y biológica de la proteínas Cry1F derivada en forma microbiana y la proteína Cry1F derivada de la planta fue establecida mediante la comparación de su peso molecular, inmunoreactividad, ausencia de glicosilación, homología de la secuencia de aminoácidos N-terminal y actividad biológica con respecto al gusano barrenador Europeo y otras dos plagas de insectos (Evans, 1998).

Cinco ratones machos y cinco hembras fueron dosificados con un material de prueba al 15% w/v en 2% w/v carboxi-metilcelulosa (CMC) en dos dosis con un total de 33.7 ml/kg de peso cuerporal. Las dosis fueron suministradas en dos volúmenes iguales con aproximadamente una hora de diferencia. Se realizaron observaciones de mortalidad y/o patológicas clínicas o de comportamiento tres veces en el día 0 del estudio y dos veces el resto de los 14 días que duró el estudio. El peso se midió en los días 7 y 14 del estudio. Al final del estudio, los animales de prueba fueron sacrificados para realizar la necropsia. No se observó mortandad durante el estudio. No se observaron señales clínicas durante el estudio y no se notaron irregularidades al momento de la necropsia. El LD_{50} en el estudio fue determinado como mayor a 5050 mg/kg. Cuando la pureza del material de prueba se ajusto (11.4%), el LD_{50} en el estudio fue mayor de 576 mg/kg. Esta dosis es 12,190 veces mayor que la estimada que un humano podría comer si es alimentado con maíz con el gen *cry*1F (Wolt, 1999). Esto suponiendo que el 100% del cultivo de maíz produjera proteína Cry1F y la proteína no se degradara o no fuera eliminada en el procesamiento de alimentos. Estos cálculos extremadamente conservadores del margen de exposición apoyan la teoría de la seguridad de la proteína Cry1F para humanos.

Para medir la posible toxicidad de la proteína Cry1F en dietas comerciales de pescado se analizó la estabilidad de la proteína Cry1F durante la preparación de las dietas (Mayers, 1999). Fue elaborada comida experimental para peces a partir de granos de plantas de maíz expresando la proteína *Bt* Cry1F usando un proceso comercial. La dieta para peces fue analizada para la proteína Cry1F con ELISA utilizando un bioensayo con larvas de primer estadio de gusano tabacalero. El análisis de ELISA de las dietas demostró que la endotoxina Cry1F no fue detectadle en las muestras con un limite de detección de 0.04 ng/mg. El análisis estadístico de los bioensayos indica que no hubo actividad biológica significativa asociada con las dietas conteniendo alimento de maíz expresando la proteína Cry1F. En base a estas observaciones, el bajo contenido de la proteína Cry1F en granos de maíz y el hecho de que solamente cantidades limitadas se incorporaron a la dieta de los peces, se puede concluir que los peces no serán expuestos a la proteína Cry1F en dietas comerciales para peces.

La proteína PAT, la cual fue 84% proteína pura, fue también evaluada en un estudio de toxicidad oral aguda (Brooks, 2000). Cinco ratones machos y cinco hembras recibieron 6000 mg/kg de material de prueba (conteniendo 5000 mg/kg PAT) como suspensión al 25% en 0.5% de metilcelulosa. Como el volumen del material de prueba en metilcelulosa excedió 2 ml/100g en peso, la suspensión del material de prueba fue administrado en dos fracciones separados una hora aproximadamente. Los parámetros evaluados durante las dos semanas de prueba incluyeron peso del cuerpo y observaciones clínicas detalladas. Todos los animales fueron evaluados por cambios patológicos. Todos los ratones sobrevivieron hasta el final de las dos semanas de prueba. No hubo cambios clínicos y todos los ratones ganaron peso en el tiempo que duro el estudio. No hubo lesiones patológicas para ningún animal en el estudio. Bajo las condiciones del estudio, la LD_{50} de la proteína PATen ratones machos y hembras CD-1 fueron mayores a 6000 mg/kg. Estos resultados son consistentes con previos estudios donde se indica que la proteína PAT no representa riesgo alguno a la salud humana (EPA, 1997; EPA, 1995). Por lo tanto, la expresión de la proteína PAT en la línea de maíz *Bt* Cry1F 1507 no representa riesgos para la salud humana en dietas alimenticias.

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

Ver Anexo V, Opinión de la EFSA

n) Genes de selección utilizados durante el desarrollo del OGM y el fenotipo que confieren estos genes de selección, incluyendo el mecanismo de acción de estos genes

EVENTOS DAS-01507-1

El gen *pat* que confiere resistencia a glufosinato de amonio fue usado como agente selectivo.

La proteína fosfinotricina acetiltransferasa (PAT), la cual es codificada por el gen *pat*, confiere tolerancia a una forma de fosfinotricina sintetizada como la del glufosinato de amonio. Mediante el proceso de acetilación, la fosfinotricina se convierte en una forma inactiva que no es toxica a las plantas de maíz. El glufosinato de amonio es un herbicida no-selectivo, no sistémico y de amplio espectro. Las plantas de maíz tolerantes al glufosinato de amonio pueden ser fácilmente identificadas en el campo a través de aplicaciones foliares del herbicida.

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

o) Número de generaciones que mostraron estabilidad en la herencia del transgen.

Ver inciso j) del apartado I

p) Referencias bibliográficas de los datos presentados

Adang, M. J., Firoozabady, E., Klein, J., DeBoer, D., Sekar, V., Kemp, J.D., Murray, E., Rocheleau, T.A., Rashka, K., Staffeld, C., Stock, C., Sutton, D. and Merlo, D. J. 1987. Expression of a Bacillus thuringiensis insecticidal crystal protein gene in tobacco plants. Published in: Molecular Strategies for Crop Protection, C. Arntzen and C. Ryan, (ed. Alan R. Liss) Inc. New York p. 345-353.

Ammann, K. 2005. Effects of biotechnology on biodiversity: herbicide-tolerant and insect-resistance GM crops. TRENDS in Biotechnology 23:388-394

Aylor, D., Baltazar, M.B. and Schoper J. 2005. Some Physical Properties of Teosintle (Zea mays subsp. parviglumis) Pollen. J. Exp. Bot. 56:2401-2407.

Baltazar M.B., Sánchez-González, J.J., De la Cruz-Larios, L. and Schoper, J. 2005. Pollination between maize and teosintle: an important determinant of gene flow in México. Theor Appl Genet. 110:519-526.

Barton, K.A., Whiteley, H.R., Yang, Ning-Sun. 1987. Bacillus thuringiensis d-endotoxin expressed in transgenic Nicotiana tabacum provides resistance to lepidopteran insects. Plant Physiology 85:1103-1109.

Base de Datos de ICTV. 1998. 15.0.1.0.001 Cauliflower mosaic virus (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/15010001.htm).

Beck, E., Ludwig, G., Auerswald, E.A., Reiss, B. and Schaller, H. 1982. Nucleotide sequence and exact localization of the neomycin phosphotransferase gene from transposon Tn5. Gene, 19, pp. 327-336.

Bravo, A. 1997. Phylogenetic Relationships of Bacillus thuringiensis δ-Endotoxin Family Proteins and Their Functional Domains. Journal of Bacteriology, p. 2793-2801.

Brooks, K.J. 2000. *PAT microbial protein (FL): Acute Oral Toxicity Study in CD-1 Mice* (Proteina microbiana PAT (FL): Estudio de toxicidad aguda oral en ratones CD-1). Report number 991249, an unpublished technical report by Mycogen c/o Dow AgroSciences LLC.

Brookes G. 2005. GM crops: the global socio-economic and environmental impact-the first nine yeas 1996- 2004. PG Economics Ltd. UK. 67.

CFIA. 1994. Regulatory Directive Dir 94-11: The Biology of Zea mays L. (Corn/Maize) (Biología del Zea mays l. Canadian Food Inspection Ag., Plant Products Div., Plant Biotechnology Office, Ottawa.

CFIA. 1998. Decision document 98-22: Determination of the safety of AgrEvo Canada Inc.'s glufosinate ammonium tolerant corn (Zea mays) lines, T14 and T25. Canadian Food Inspection Agency, Plant Health and Production Division, Plant Biotechnology Office, Ottawa

CFIA. Oct 2002. Decision document DD2002-4198-22: Determination of the Safety of Dow AgroSciences Canada Inc. and Pioneer Hi-Bred International's Insect Resistant and Glufosinate - Ammonium Tolerant Corn (*Zea mays* L.) Line 1507. Canadian Food Inspection Agency, Plant Health and Production Division, Plant Biotechnology Office, Ottawa

Christensen, A.H., R.A. Sharrock, and P.H.Quail. 1992. Maize polyubiquitin genes: Structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. Plant. Mol. Biol. 18:675-689.

Cornell University 1996. Bacteria. In: Biological control: A guide to natural enemies in North America. Weeden, Shelton and Hoffmann (eds). Cornell University, Ithaca, NY (Http://Www.Nysaes.Cornell.Edu/Ent/Biocontrol/Pathogens/Bacteria.Html).

Del Valle, F.R., Pico, M.L., Camacho, J.L., Bourges, H. 1983. *Effect of processing parameters on trypsin inhibitor and lectin contents of tortillas from whole raw corn-soybean mixtures* (Efecto de los parámetros de procesamiento en los contenidos de inhibidor de tripsina y lecitina de tortillas de mezclas de maíz-soja cruda entera) . *J. Food Science* 48: 246-252.

Doebley, J. (1990). Molecular evidence for gene flow among Zea species. BioScience 40:443-448.

Doebley, J. 2004.The genetics of maize evolution. Annu Rev Gen. 2004;38:37-59.

Eckardt, N.A. 2003. Maize genetics 2003. Meeting Report. The Plant Cell Rep. 15 (5) 1053-1055.

Eckes, P., Vijtewaal, B., Donn, G. 1989. Synthetic gene confers resistance to the broad spectrum herbicide L-phosphinothricin in plants (Gen sintético confiere a las plantas resistencia al herbicida L-fosfinotricina de amplio espectro). J. Cell. Biochem. 13D:334.

EFSA. 2005. 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

EPA. 1997. Phosphinothricin Acetyltransferase and the Genetic Material Necessary for its Production in All Plants; Exemption from the Requirement of a Tolerance on All Raw Agricultural Commodities. Fed. Reg. 62:17717-17720.

EPA. 1995a. Plant pesticide Bacillus thuringiensis CryIIIA delta-endotoxin and the genetic material necessary for its production; tolerance exemption. Fed. Reg. PP3F4273/R2132; FRL-4953-2.

EPA. 1995b. Plant pesticide inert ingredient phosphinothricin acetyltransferase (PAT) and the genetic material necessary for its production (plasmid vector pCIBP3064) in corn; tolerance exemption. Fed. Reg., 60, 158, pp. 42450-42453.

EPA. 1996. Bacillus thuringiensis Cry1A(b) delta-endotoxin and the genetic material necessary for its production in all plants; exemption from requirement of a tolerance Fed. Reg., 61, 150, pp. 40340-40343.

EPA, 1998. Decades of safety testing on microbial pesticide B.t. formulations have demonstrated a lack of toxicity to humans and animals, and the absence of adverse effects on non-target organisms and the environment

Evans, S.L. 1998. Equivalency of Microbial and Maize Expressed Cry1F Protein; Characterization of Test Substances for Biochemical and Toxicological Studies. Report number MYCO98-001, an unpublished technical report by Mycogen Seeds c/o Dow AgroSciences.

Evans, M.M.S. and Kermicle, J.L. 2001. Teosintle crossing barrier1, a locus governing hybridization of tosinte with maize. Theor. Appl. Genet. 103: 259-265.

Fischhoff, D., Bowdish, K., Perlak, F., Marrone, P., McCormick, S., Niedermeyer, J., Dean, D., Kusano-Kretzmer, K., Mayer, E., Rochester, K., Rogers, S., and Fraley, R. 1987. Insect tolerant transgenic tomato plants. Bio/Technology 5:807-813.

Galinat, W.C. 1988. Palomero Toluqueno and certain Andean maize carry the short rachillae and reduced cupule traits probably descended from an independent domestication of teosinte. MNL 62:111

Glatt, C.M. 1999. *Phosphinothricin acetyltransferase (PAT) protein: In Vitro Digestibility Study* (Proteína fosfinotricina acetiltransferasa (PAT): Estudio de digestibilidad *in vitro*). Report number DuPont 3365, an unpublished technical report by E.I. du Pont de Nemours and Company.

IFBC. 1990. *Safety Evaluation of Whole Foods and Other Complex Mixtures (Chapter 6). In: Biotechnologies and Food: Assuring the Safety of Foods Produced by Genetic Modification* (Evaluación de la seguridad de alimentos enteros y otras mezclas complejas (Capítulo 6), En: Biotecnologías y control de calidad de la seguridad de alimentos producidos mediante modificación genética) International Food Biotechnology Council. (eds. Coulston, F. and Kolbye, Jr., A.C.). Published in: Regulatory Toxicology and Pharmacology Volume 12, No. 3, December 1990. Academic Press, Inc.

JBCH. 2002. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1 use approval for DAS-Ø15Ø7-1. Japanese Biosafety Clearing House, Ministry of Environment.

Klein, T.M., E.D. Wolf, R. Wu, and J.C. Sanford. 1987. High velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. Nature 327:70-73.

Kuhn, J.O. 1998. *Cry1F Bt. var. aizawai Delta-endoprotein: Acute Oral Toxicity Study in Mice* (Delta-endoproteina Cry1F de la var. *aizawai* del *Bt*: Estudio de toxicidad aguda oral en ratones). Report number 4281-98, an unpublished technical report by Mycogen Seeds c/o Dow AgroSciences LLC.

Luna, S., Figueroa, J., Baltazar, B., Gomez, R., Townsend, R., Schoper, J. 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. Crop Sci. 41: 1551-1557.

Merritt, C.R. 1998. The commercialization of transgenic crops – the Bt experience. In: Biotechnology in crop protection: Facts and fallacies. 1998 BCPC Symposium Proceedings, 71, pp. 79-86.

Meyer, T. 1999. Comparison of Amino Acid Sequence Similarity of Cry1F and PAT Proteins to Known Allergen Proteins. Report number PHI99-013, an unpublished technical report by Pioneer Hi-Bred International, Inc.

Murray, E., Lotzer, J. and Eberle, M. 1989. Codon usage in plant Genes. Nucleic Acids Research 17(2):477-498.

Odell, J.T., Nagy, F. and Chua, N.H. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. Nature, 313, pp. 810-812.

OECD. 1999. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11

Pietrzak, M., Shillito, R., Hohn, T. and Potrykus, I. 1986. Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new plant expression vector. Nucleic Acids Research 14, pp. 5857-5868.

Resolución ICA 464 de febrero 26 de 2007 por la cual se autorizan siembras de maíz con la tecnología Herculex I (TC-1507)

Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R., and Dean, D. H. 1998 Bacillus thuringiensis and Its Pesticidal Crystal Proteins. Microbiol. Mol. Biol. Reviews. Sept., 1998. p. 775-806.

USDA 1995. Availability of determination of no regulated status for genetically engineered corn. Fed. Reg., 60, 134, pp. 36095-36096.

USDA/APHIS. 2001. Decision on Mycogen Seeds c/o Dow AgroSciences LLC and Pioneer Hi-Bred International, Inc. Petition 00-136-01P Seeking a Determination of Nonregulated Status for Bt Cry1F Insect Resistant, Glufosinate Tolerant Corn Line 1507. Animal and Plant Health Inspection Service and U.S. Department of Agriculture

Van Wert, 1994. Petition for Determination of Nonregulated Status: Glufosinate Resistant Corn Transformation Events T14 & T25. U.S. Dept. of Agriculture, Washington.

Vaeck, M., Reynaerts, A., Hofte, H., Jansens, S., De Beuckeleer, M., Dean, C., Zabeau, M., Van Montagu, M., and Leemans, J. 1987. Transgenic plants protected from insect attack. Nature 328:33-37.

www.conabio.gob.mx. Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM). Proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad.

Watson, S.A. 1987. *Structure and Composition. pp. 53-82. In Corn: Chemistry and Technology* (Estructura y composición, pp. 53-82. En Maíz: química y tecnología), S.A. Watson and P.E. Ransted (eds). American Association of Cereal Chemists, Inc., Minnesota.

Wilkes, H.G. 1977. Hybridization of maize and teosinte in Mexico and Guatemala and the improvement of maize. Econ Bot 34:254-293.

Weber A, Clark RM, Vaughn L, Sánchez-Gonzalez Jde J, Yu J, Yandell BS, Bradbury P, Doebley J.2007. Major regulatory genes in maize contribute to standing variation in teosinte (*Zea mays ssp. parviglumis*). Genetics. 177(4):2349-59.

White, P.J. and Pollak, L.M. 1995. Corn as a food source in the United States: Part II. Processes, Products, Composition, and Nutritive Values. Cereal Foods World 40: 756-762.

Wilkes, H.G. 1977. Hybridization of maize and teosintle in México and Guatemala and the improvement of maize. Econ. Bot.31: 254-293

Wohlleben, W., Arnold, W., Broer, I., Hillemann, D., Strauch, E. and Pühler, A. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from Streptomyces viridochromogenes Tü494 and its expression in Nicotiana tabacum. Gene, 70, pp. 25-37.

Wolt, J. D. 1999. Non-target exposure and risk assessment for environmental dispersal of Cry1F maize pollen (Exposición a no blancos y evaluación del riesgo de dispersión ambiental del polen de maíz Cry1F). Report number GH-C 4988, an unpublished study of Dow AgroSciences.

Yanisch-Perron, C., Vieira J. and Messing J. 1985. Improved M13 Phage Cloning Vectors and Host Strains: Nucleotide Sequences of the M13 mp18 and pUC19 Vectors. Gene 33:103-119.

http://www.agbios.com/dbase.php?action=Submit&evidx=84

II) IDENTIFICACIÓN DE LA ZONA O ZONAS DONDE SE PRETENDA LIBERAR EL OGM.

Coordenadas del polígono "INIFAP La Laguna"			
Vértice	UTM		
	UTM Este	UTM Norte	Zona
a	676899.82 m E	2825118.09 m N	13 R
b	676873.71 m E	2824122.42 m N	13 R
c	675769.08 m E	2823607.19 m N	13 R
d	675962.44 m E	2825336.44 m N	13 R

Coordenadas del polígono "La Esperanza"			
Vértice	UTM		
	UTM Este	UTM Norte	Zona
a	687989.83 m E	2845728.03 m N	13 R
b	688034.98 m E	2845865.94 m N	13 R
c	688066.60 m E	2845976.26 m N	13 R
d	688107.65 m E	2846128.58 m N	13 R
e	688122.51 m E	2846142.03 m N	13 R
f	688165.71 m E	2846280.22 m N	13 R
g	688205.96 m E	2846410.36 m N	13 R
h	688240.27 m E	2846545.96 m N	13 R
i	687293.38 m E	2846850.46 m N	13 R
j	687235.91 m E	2846814.25 m N	13 R
k	687234.10 m E	2846784.38 m N	13 R
l	687255.59 m E	2846763.44 m N	13 R
m	687264.36 m E	2846714.94 m N	13 R
n	687377.32 m E	2846533.72 m N	13 R
ñ	687498.54 m E	2846340.31 m N	13 R
o	687629.90 m E	2846120.57 m N	13 R
p	687734.72 m E	2845963.86 m N	13 R
q	687778.40 m E	2845852.45 m N	13 R

Coordenadas del polígono "Media Luna"			
Vértice	UTM		
	UTM Este	UTM Norte	Zona
a	661055.52 m E	2854904.79 m N	13 R
b	660869.74 m E	2855007.88 m N	13 R
c	660532.74 m E	2855094.62 m N	13 R
d	659554.81 m E	2855441.69 m N	13 R
e	658719.26 m E	2855544.61 m N	13 R
f	660565.12 m E	2854576.54 m N	13 R
g	660636.59 m E	2852658.63 m N	13 R
h	660551.93 m E	2852609.97 m N	13 R

Coordenadas del polígono "El Retiro"			
Vértice	UTM		
	UTM Este	UTM Norte	Zona
a	688593.39 m E	2859315.18 m N	13 R
b	689470.72 m E	2859427.50 m N	13 R
c	689495.53 m E	2858399.28 m N	13 R
d	688657.14 m E	2858244.98 m N	13 R

c) Descripción de los polígonos donde se realizará la liberación y de las zonas vecinas a éstos según las características de diseminación del OGM de que se trate:

El polígono "INIFAP La Laguna" se encuentra dentro de los campos experimentales del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) en Matamoros, Coah.; los polígonos "La Esperanza" y "El Retiro" se ubican en el área agrícola de La Laguna en San Pedro de las Colonias, Coah.; y el polígono "Media Luna" se ubica en el área agrícola de La Laguna en Gómez Palacio, Durango.

2.c.1 Listado de especies sexualmente compatibles y de las especies que tengan interacción en el área de liberación y en zonas vecinas a éstos, incluir que especies se encuentran en las zonas potenciales de liberación si es que se cuenta con esa información.

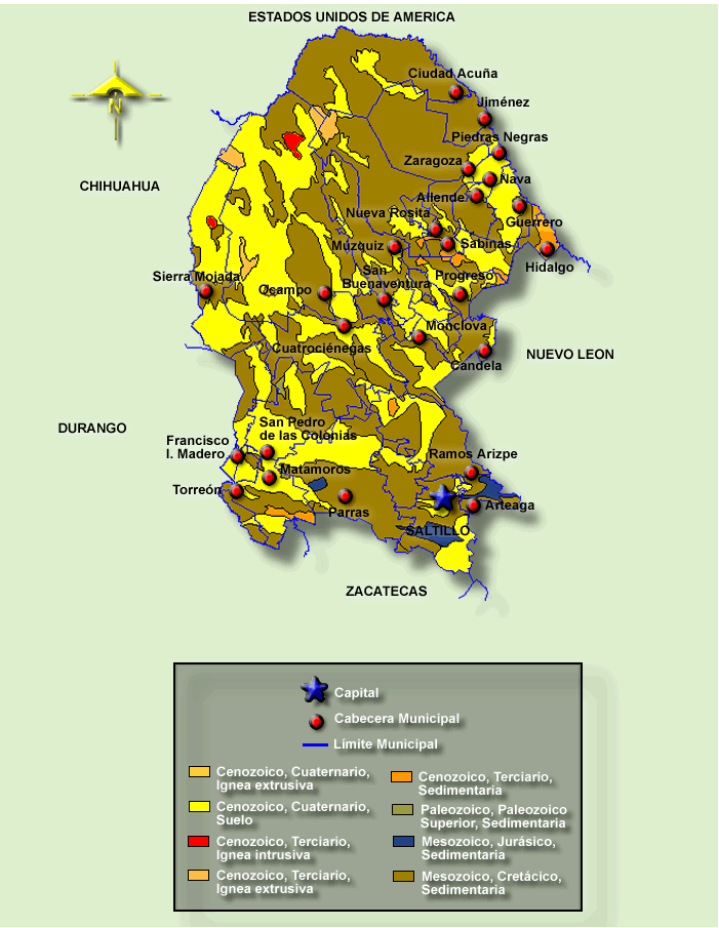
Ver punto 1.c.

El listado de las especies sexualmente compatibles corresponde a lo publicado por el diario oficial de la federación el 10 de Noviembre de 2000.

2.c.2 Descripción geográfica

LA LAGUNA: COAHUILA

Geología

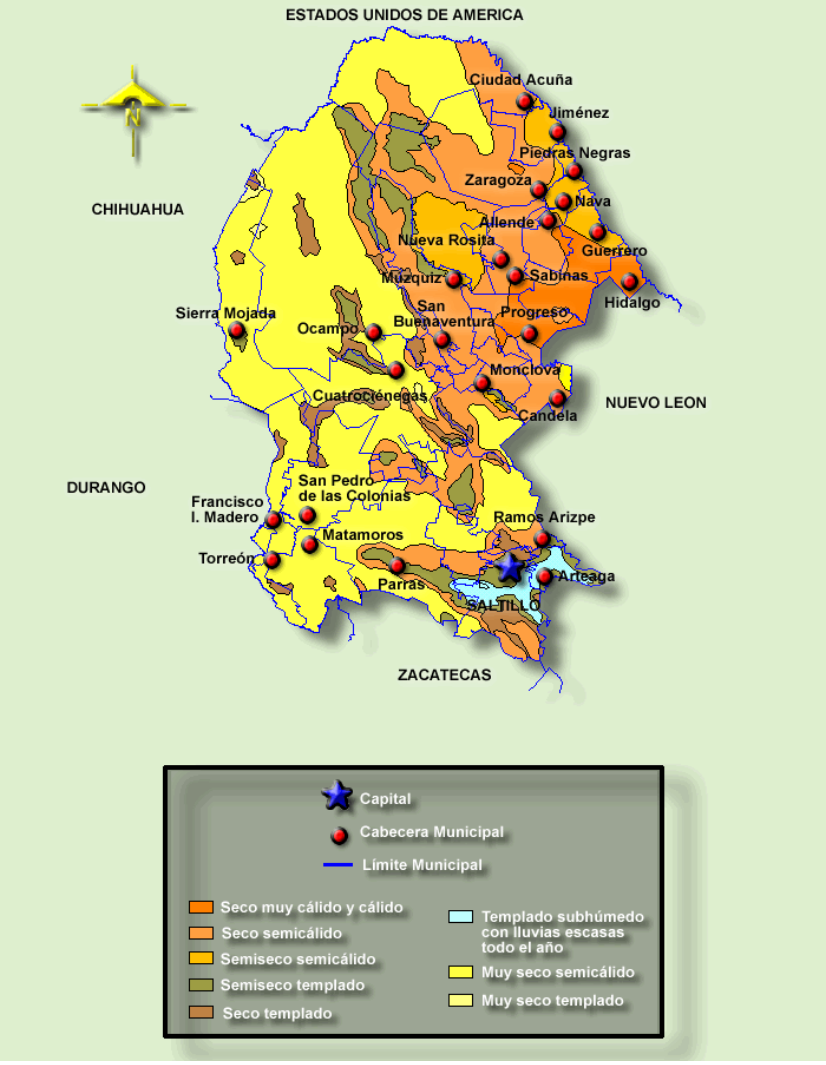


El territorio coahuilense está constituido en su mayor parte por rocas de origen sedimentario, tanto marino como continental cuyas edades van desde el Paleozoico hasta el Cuaternario. Estas rocas han sido afectadas por intensos plegamientos, así como afallamientos e intrusiones relacionadas a ellos. La orientación de los plegamientos es en dirección este-oeste en el sur del estado, y noroeste-sureste en el resto de él.

En diversas zonas del estado se encuentran rocas ígneas cuyas edades varían desde el Triásico hasta el Cuaternario. Son las extrusivas las mas jóvenes de ellas, y forman, en algunos casos, las partes más altas de las sierras, mientras que las intrusivas han quedado expuestas en pequeños cuerpos debido a la erosión de las rocas sedimentarias a las cuales intrusionaron y en algunos casos mineralizaron. En muchos lugares afloran conglomerados continentales terciarios, que constituyen lomeríos y las extensas bajadas de las sierras.

Los aluviones son los depósitos más recientes y están constituidos por detritos de las diversas rocas mencionadas. Ellos cubren la mayor parte de los llanos y alcanzan en algunos casos espesores de varios cientos de metros. Las rocas metamórficas Paleozoicas afloran en pequeñas áreas dispersas por varias zonas en la entidad.

Clima



El estado de Coahuila está situado, en su mayor parte, en el oriente de la gran área climática denominada Desierto de Chihuahua, o Desierto del Norte de México. Se caracteriza por poseer climas continentales, secos y muy secos, que van desde los semicálidos, predominantes en los bolsones coahuilenses, hasta los templados de las partes más altas y las más septentrionales.

Tres son las áreas en las que puede dividirse al estado por sus climas, de un modo general: El occidente muy seco; el centro y sur, en los que se asocian climas desde los muy secos y secos semicálidos de sus bolsones y valles hasta los semisecos templados y los templados subhúmedos de las cumbres serranas, con predominancia de climas secos y por último el noreste semiseco y seco con influencia marítima más notoria.

Occidente y centro del estado

Sobre las extensas llanuras del poniente de Coahuila, y algunas otras en el centro de la entidad, se presentan climas muy secos, semicálidos, con lluvias predominantemente veraniegas que coinciden con las temperaturas más altas e inviernos frescos. La influencia de estos climas abarca grandes áreas del estado, en el Bolsón de Mapimí, las lagunas de Mayrán y Viesca, la Comarca Lagunera, y además en el norte de la entidad, y su parte central, como en el gran llano de Ocampo, y los de San Marcos, Cuatrociénegas, el Sobaco y el Hundido.

Heladas y granizadas

Los climas predominantemente secos y extremosos que prevalecen en Coahuila, dan como resultado, en lo que a la incidencia de heladas y granizadas se refiere, una frecuencia moderada o alta de las primeras, aún en áreas cuyo régimen de temperatura se clasifica como cálido, y una muy baja incidencia de granizadas.

La frecuencia de heladas en invierno y primavera está en relación con el tipo de clima. En los terrenos que presentan climas del grupo de los secos (semisecos, secos y muy secos) todos ellos semicálidos, hiela unos 20 días al año en promedio; y en los que presentan climas secos templados, de 20 a 40.

En las zonas más altas de las sierras en las que se presentan climas templados subhúmedos, los días con heladas al año llegan a totalizar hasta 60, *y* en las cumbres semifrías rebasan esta frecuencia. Las granizadas, en cambio, tienen una frecuencia muy baja, que en la totalidad del área del estado, no rebasan, en promedio, las 2 al año.

LA LAGUNA: DURANGO

Geología

La roca más antigua es la metamórfica del Triásico (225 millones de años), se sitúa en el municipio de Mezquital, con 0.1% de la superficie estatal, las rocas sedimentarias del Jurásico (180 millones de años) ocupan 0.3%, se localizan en el extremo este, en el municipio de San Juan de Guadalupe, el Cretácico (135 millones de años) con rocas sedimentarias (10.7%) e ígnea intrusiva (2.7%), se ubican en el extremo oeste colindando con el estado de Sinaloa y en una franja de unidades litológicas con orientación norte-oriente; los tres Periodos descritos pertenecen a la Era del *Mesozoico*; la Era del *Cenozoico* ocupa 86.2% de la superficie estatal, el Periodo Terciario se manifiesta en la porción occidental y media con una orientación noroeste-sureste, la roca ígnea extrusiva de este Periodo abarca 57.1%, y la sedimentaria ocupa 4.7%; en el Cuaternario las rocas se ubican al centro del estado, y al noreste principalmente, el suelo cubre 20.1% y la roca ígnea extrusiva 4.3%.

Clima

La variedad climática que tiene el estado de Durango se debe a la interacción de factores tales como: la altitud, por lo general de 2 000 m en adelante; el relieve irregular, sobre todo en las porciones occidental y sur; la ubicación de la mayor parte de su territorio en la zona subtropical; y su distancia con respecto a las masas de agua. Así, en orden por la extensión que cubren, se presentan climas *semisecos*, *templado*, *secos*, *muy secos*, *semifríos*, *semicálido* y *cálido*.

En el noreste (parte del Bolsón de Mapimí y de la Comarca Lagunera) y este, predomina el clima muy seco semicálido, el cual abarca 12.61% del territorio duranguense; en esta zona, lugar de establecimiento de las poblaciones Ceballos, Tlahualilo de Zaragoza, Gómez Palacio y Ciudad Lerdo, se reportan las precipitaciones totales anuales más bajas de la entidad, entre 100 y 300 mm, y la temperatura media anual varía de 18° a 22°C. En una proporción mucho menor, por lo que no se muestran en el mapa, se encuentran los climas muy seco muy cálido y cálido, localizado al suroeste de Ciudad Lerdo y cuya temperatura media anual va de 22° a 24°C, y muy seco templado, al oriente de Ceballos y con temperatura media anual entre 16° y 18°C; en ambos la precipitación total anual es menor de 300 mm.

Referencias

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Información Geográfica. Mapas de Climas. Coahuila.
http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/coa/climas_map.cfm?c=444&e=16

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Información Geográfica. Mapas de Climas. Durango. http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/estados/dgo/clim.cfm?c=444&e=32
Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Información Geográfica. Mapa de Geología. Coahuila. http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/coa/geolo.cfm?c=444&e=23
Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Información Geográfica. Mapa de Geología. Durango. http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/estados/dgo/geolo.cfm?c=444&e=13

III) ESTUDIO DE LOS POSIBLES RIESGOS QUE LA LIBERACIÓN DE LOS OGMS PUDIERA GENERAR AL MEDIO AMBIENTE Y A LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA A LOS QUE SE REFIERE EL ARTÍCULO 42, FRACCIÓN III, DE LA LEY. CONTENDRÁ ADEMÁS DE LO DISPUESTO EN EL ARTÍCULO 62 DE LA LEY, LA INFORMACIÓN SIGUIENTE:

a) Estabilidad de la modificación genética del OGM

Ver estabilidad de la modificación genética en el inciso (j) del apartado I.

b) Expresión del gen introducido, incluyendo niveles de expresión de la proteína de interés en los diversos tejidos, así como los resultados que lo demuestren

En base a los resultados observados en el estudio PHI-2008-071 (Anexo II), las concentraciones de la proteína cry1F en tejidos derivados de maíz 1507xMON810xNK603 y maíz 1507xMON810xNK603 tratado con herbicida fueron comparables a las concentraciones de la proteína cry1F en tejidos del maíz parental 1507.

Las concentraciones de la proteína Cry1Ab en tejidos hoja, tallo raíz y grano derivados de maíz 1507xMON810xNK603 y maíz 1507xMON810xNK603 tratado con herbicida fueron comparables a las concentraciones en tejidos de hoja, tallo raíz y grano derivados de maíz MON810.

Las concentraciones de la proteína CP4 EPSPS en todos los tejidos derivados de maíz 1507xMON810xNK603 fueron comparables a las concentraciones de la proteína en tejidos de maíz NK603. La concentración de la proteína CP4 EPSPS en polen derivado de maíz 1507xMON810xNK603 tratado con herbicida estuvieron elevadas en comparación con la concentración en polen de maíz NK603.

Para todas las muestras de tejidos derivadas del maíz control, los resultados ELISA para cry1F, PAT, Cry1Ab y CP4 EPSPS estuvieron por debajo del límite bajo de cuantificación (<LLOQ).

Ver Anexo II: Comparison of Expressed Trait Protein Concentration in Grain from Maize Lines Containing Events DAS-Ø15Ø7-1, MON-ØØ81Ø-6, MON-ØØ6Ø3-6, and Combined Trait ProductDAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ81Ø-6xMON-ØØ6Ø3-6: U.S. Test Sites

c) Características del fenotipo del OGM

Las características fenotípicas del maíz 1507xMON810xNK603 son equivalentes a las de su contraparte convencional con excepción de la resistencia a lepidópteros y la tolerancia a glifosato que le proveen los genes *cry*1F, *cry*1Ab y CP4 *epsps*

Gen *cry1*F

El gen *cry*1F codifica para la síntesis de la proteína Cry1F, que actúa por unión selectiva a los sitios específicos localizados en el revestimiento del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Posterior a la unión, se forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio, causando parálisis intestinal y finalmente la muerte por septicemia bacteriana. Cry1F es letal sólo cuando es consumida por las larvas de algunos insectos lepidópteros y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos objetivo. No hay sitios de unión para para delta-endotoxinas de *B. thuringiensis* en la superficie

de las células intestinales de mamíferos, por lo tanto, el ganado y los seres humanos no son susceptibles a estas proteínas.

Gen *pat*

La proteína fosfonitrocina acetaliza (PAT), confiere tolerancia a una forma de fosfinotricina sintetizada como la del glufosinato de amonio. Mediante el proceso de acetilación, fosfinotricina se convierte en una forma inactiva que no es toxica a las plantas de maíz. Glufosinato de amonio es un herbicida no-selectivo, no sistémico y de amplio espectro. Las plantas de maíz tolerantes al glufosinato de amonio pueden ser fácilmente identificadas en el campo a través de aplicaciones foliares del herbicida. Más detalles en este tema se puede encontrar en el documento concentrado acerca de los genes y sus proteínas que confieren tolerancia al herbicida fosfinotricina publicado por el OECD (OECD, 1999).

Gen *cry*1Ab

El gen *cry*1Ab produce una versión truncada de la proteína insecticida Cry1Ab, derivada del *Bacillus thuringiensis*. Las Delta-endotoxinas, como la proteína Cry1Ab expresada en MON810, actúan de forma selectiva mediante la unión a sitios específicos localizados en el epitelio del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Tras la unión, cationes específicos forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio y por tanto causa parálisis y la muerte del insecto. La proteína Cry1Ab es insecticida sólo con algunos insectos lepidópteros, y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos blanco.*

Gen *CP4 EPSPS*

La enzima EPSPS es parte de la ruta metabólica del shikimato para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en plantas (incluido el maíz) y en microorganismos, por lo tanto también se presenta ordinariamente en derivados de alimentos de origen vegetal. Esta vía metabólica no esta presente en los mamíferos. El herbicida glifosato mata a la planta debida a la inhibición de la enzima EPSPS. El gen EPSPS de *Agrobacterium sp*. cepa CP4 es altamente tolerante a la inhibición por el glifosato y tiene una alta eficiencia catalítica, por lo cual las plantas GM tolerante al glifosato no son afectadas al ser tratadas con este herbicida debido a la actividad contínua de las enzimas EPSPS ya que la producción de aminoácidos aromáticos no se ve afectada.*

*CERA. (2010). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database

d) Identificación de cualquier característica física y fenotípica nueva relacionada con el OGM que pueda tener efectos adversos sobre la diversidad biológica y en el medio ambiente receptor del OGM.

Las características fenotípicas nuevas expresadas por el maíz DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 son la resistencia a algunos insectos lepidópteros [Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*); Gusano Elotero (*Helicoverpa zeae*) y barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*)] y la tolerancia a glifosato conferidas por los genes *cry*1F y *cry*1Ab, y *cp*4 *epsps*, respectivamente.

Los resultados hasta ahora observados en experimentos establecidos en otros países no han demostrado efectos adversos para la diversidad biológica y el medio ambiente en el desarrollo del maíz 1507xMON810xNK603. Además, el evento 1507 ha sido desregulado con la previa evaluación de la APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service), la EFSA (European Food Safety Authority) y otras agencias reguladoras en diferentes países, y han sido considerados seguros para el medio ambiente y la diversidad biológica.

Ver Anexo V: Opinión de la EFSA y Análisis de Riesgo de la APHIS/USDA
Anexo XIV: Análisis de riesgo. NIMF no.° 11. Maíz GM 1507xMON810xNK603

e) Comparación de la expresión fenotípica del OGM respecto al organismo receptor, la cual incluya al menos, ciclo biológico y cambios en morfología básica

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la media de los valores de ninguna característica agronómica en maíz 1507xMON810xNK603 y maíz control. Basados en los datos obtenidos en el estudio, las características agronómicas del maíz 1507xMON810xNK603 y maíz control fueron comparables.

Debido a la falta de variación en las repeticiones, no se llevaron a cabo análisis estadísticos para acame de raíz, acame de tallo y daño por insectos. El resumen del análisis estadístico se encuentra en la Tabla 9.

Tabla 2. Resumen de los resultados del análisis de características agronómicas.

Agronomic Characteristic		Control Maize	1507xMON810xNK603 Maize	Tolerance Interval
Población final	Mean	52	53	40 - 60
	Range	45 - 59	44 - 56	
	CI	49 - 54	50 - 55	
	FDR		0.442	
	P-Value		0.354	
Población final	Mean	50	51	36 - 60
	Range	45 - 57	45 - 56	
	CI	47 - 53	49 - 54	
	FDR		0.442	
	P-Value		0.295	
Vigor de floración	Mean	8	7	3 - 9
	Range	6 - 9	4 - 9	
	CI	6 - 10	5 - 9	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.13	
Floración	Mean	1350	1360	826 - 1870
	Range	1220 - 1470	1220 - 1420	
	CI	1250 - 1450	1260 - 1460	
	FDR		0.442	
	P-Value		0.364	
Liberación de polen	Mean	1390	1390	872 - 1880
	Range	1240 - 1530	1240 - 1470	
	CI	1280 - 1500	1280 - 1510	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.167	
Acame de tallo	Mean	0	0	0 - 20[b]
	Range	0 - 2	0 - 2	
	CI	NA[a]	NA	
	FDR		NA	
	P-Value		NA	
Acame de raíz	Mean	1	0	0 - 8[b]
	Range	0 - 10	0 - 1	
	CI	NA	NA	
	FDR		NA	
	P-Value		NA	
Stay Green	Mean	3	3	1 - 9
	Range	2 - 5	2 - 5	
	CI	2 - 4	2 - 4	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.0881	
Incidencia de enfermedades	Mean	8	8	1 - 9
	Range	6 - 9	6 - 9	
	CI	7 - 9	7 - 9	
	FDR		1	
	P-Value		1	
Daño Por Insectos	Mean	8	8	3 - 9
	Range	8 - 9	8 - 9	
	CI	NA	NA	
	FDR		NA	
	P-Value		NA	
Viabilidad del polen (forma) 0 min.	Mean	5	5	0 - 67
	Range	0 - 30	0 - 30	
	CI	(10)[c] - 20	(10) - 20	
	FDR		1	
	P-Value		1	

Agronomic Characteristic		Control Maize	1507xMON810xNK603 Maize	Tolerance Interval
Viabilidad del polen (forma) 30 min.	Mean	40	48	0 - 100
	Range	0 - 99	10 - 99	
	CI	1 - 78	9 - 86	
	FDR		0.442	
	P-Value		0.323	
Viabilidad del polen (forma) 60 min.	Mean	73	81	0 - 100
	Range	40 - 100	50 - 100	
	CI	47 - 98	55 - 107	
	FDR		0.472	
	P-Value		0.416	
Viabilidad del polen (forma) 120 min.	Mean	93	96	22 - 100
	Range	65 - 100	80 - 100	
	CI	87 - 100	90 - 103	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.179	
Viabilidad del polen (Color) 0 min.	Mean	10	5	0 - 95
	Range	0 - 70	0 - 20	
	CI	(4) - 24	(9) - 19	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.0683	
Viabilidad del polen (Color) 30 min.	Mean	42	50	0 - 100
	Range	5 - 95	15 - 95	
	CI	8 - 76	16 - 84	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.248	
Viabilidad del polen (Color) 60 min.	Mean	67	78	2 - 100
	Range	50 - 99	50 - 100	
	CI	44 - 89	56 - 100	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.157	
Viabilidad del polen (forma) 120 min.	Mean	89	92	46 - 100
	Range	70 - 100	75 - 100	
	CI	77 - 101	80 - 104	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.251	
Altura de planta	Mean	256	263	114 - 393
	Range	224 - 294	221 - 303	
	CI	227 - 285	234 - 292	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.033	
Altura a la espiga	Mean	99	101	47 - 153
	Range	66 - 129	62 - 127	
	CI	72 - 126	74 - 128	
	FDR		0.428	
	P-Value		0.252	

a Análisis estadístico no disponible (N/D), debido a la falta de variación en las repeticiones de las muestras para esta característica agronómica.

b Los valores listados estás en un rango de mínimo y máximo.

c Los intervalos de confianza con paréntesis indican un valor negativo.

Ver anexo III: AGRONOMIC CHARACTERISTICS AND NUTRIENT COMPOSITION OF A MAIZE LINE CONTAINING THE COMBINED TRAIT PRODUCT DAS-Ø15Ø7-1XMON-ØØ81Ø-6XMON-ØØ6Ø3-6: U.S. TEST SITES

f) Declaración sobre la existencia de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente que se puedan derivar de la liberación del OGM

La presente solicitud es para la liberación experimental al ambiente, en ella se hace referencia a las estrictas medidas de bioseguridad a llevar a cabo durante la liberación del maíz GM 1507xMON810xNK603, por lo que la probabilidad de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente es muy baja. Además, los resultados hasta ahora observados en experimentos establecidos en otros países no han mostrado efectos no esperados en el desarrollo del maíz GM. El Ensayo, pretende entre sus diversos objetivos obtener información que proporcione a las Agencias Reguladoras indicativos en relación a los posibles efectos no esperados, así como su evaluación, estimación, manejo y prevención.

Es importante mencionar que el evento 1507 ha sido desregulado con la previa evaluación de la APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service), la EFSA (European Food Safety Authority) y otras agencias reguladoras en diferentes países, y ha sido considerado seguro para el medio ambiente y la diversidad biológica:

Una vez realizada la evaluación ambiental, el APHIS concluyó que no existe un impacto significativo para el medio ambiente por la desregulación de la línea de maíz 1507.

En base a la información disponible sobre el maíz 1507 y a las observaciones científicas formuladas por los Estados Miembro del Grupo GMO, la EFSA concluyó que el maíz 1507 no causa efectos adversos a la salud humana y animal o al ambiente.

Ver Anexo V: Opinión de la EFSA y Análisis de Riesgo de la APHIS/USDA
Anexo XIV: Análisis de riesgo. NIMF no.° 11. Maíz GM 1507xMON810xNK603

g) Descripción de uno o más métodos de identificación del evento específico del OGM, incluyendo niveles de sensibilidad y reproducibilidad con la manifestación expresa del promovente de que los métodos de identificación son los reconocidos por el desarrollador del OGM para la detección del mismo.

Ver métodos de detección validados por el Laboratorio de Referencia de la Comunidad Europea (CRL) en el Anexo IV.

h) Existencia potencial de flujo génico del OGM a especies relacionadas.

La presente solicitud es para la liberación experimental al ambiente, en ella se hace referencia a las estrictas medidas de bioseguridad a llevar a cabo durante la liberación del maíz GM 1507xMON810xNK603, por lo que la probabilidad de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente es extremadamente baja.

La dispersión del polen está determinada por una diversidad de factores ambientales y físicos. La dirección del viento, las turbulencias y la velocidad del viento se encuentran directamente relacionadas al movimiento del polen (Jones and Brooks, 1950; Di-Giovanni and Kevan, 1991). Otros factores tales como la densidad del polen, la densidad y la viscosidad del aire, la velocidad de sedimentación del polen y el radio del polen parecen influir en el transporte y la deposición del polen (Paterniani and Sort, 1974; Di-Giovanni et al., 1995; Aylor, 2002).

Se ha demostrado además que una vez en la atmósfera, los granos de polen deben mantenerse viables el tiempo suficiente para que alcancen a llegar a un estigma viable y así poder completar el proceso de polinización. En promedio el grano de polen pierde el 100% de viabilidad después de dos horas de exposición atmosférica (Luna et al., 2001; Aylor, 2003) (Figura 12). Típicamente los estigmas proporcionan a los granos de polen la humedad y nutrientes que le permiten germinar. El crecimiento del tubo polínico generalmente es visible dentro de los 30

minutos que el grano de polen ha llegado a un estigma receptivo y la fertilización ocurre dentro de aproximadamente 24 horas (Kiesselbach, 1999).

Estudios recientes indican que la planta de teocintle produce más polen/planta y que el polen es más pequeño (~60-70 micrones), comparado con el polen del maíz (Aylor et al. 2005; Baltazar, et al. 2005). Los estudios de Luna, Baltazar, Aylor y colaboradores sugieren que bajo condiciones de campo es más factible que el polen de teocintle polinice estigmas de maíz a que el polen del maíz polinice estigmas de teocintle. Estas observaciones se sustentan en la presencia de barreras genéticas presentes en poblaciones silvestres de *Zea mays* ssp. *Mexicana* (Evans and Kermicle, 2001) y a factores morfológicos de la planta de teocintles que previenen de ser polinizada por polen de maíz.

En los estudios de flujo genético realizados por el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA (Colombia), en Córdoba 2006, entre maíz genéticamente modificado y convencional, se verificó que la mayor parte del cruzamiento ocurrió en los primeros 50 m a partir de la fuente de polen. Estos resultados son consistentes con lo encontrado en otros países donde se ha evaluado el flujo de polen de maíz, bien sea genéticamente modificado o convencional, en los que se ha encontrado que el viento deposita el polen en el mayor porcentaje a 25-50m de la fuente por lo que no se considera que intercambie polen mas allá de lo normal sobre cualquier otro tipo de maíz incluyendo materiales silvestres que se pudiesen encontrar en la vecindad (Resolución ICA 464/07.(http://www.ica.gov.co/getattachment/2809a51f-3ae0-485e-80c7-5c833d3fedb5/464.aspx).

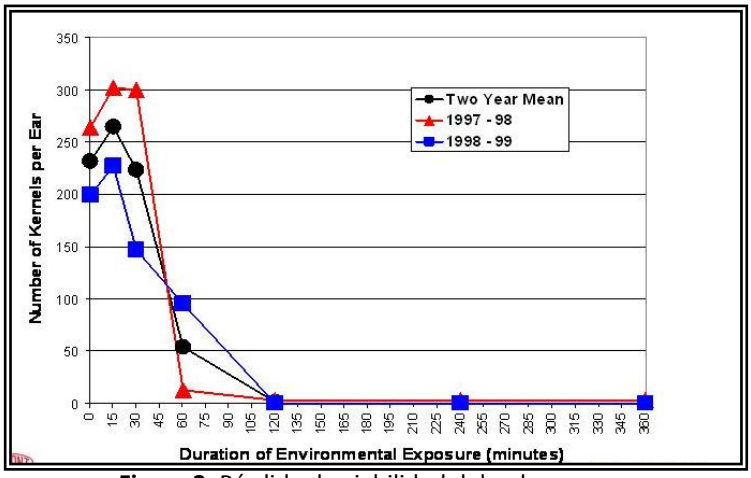


Figura 2. Pérdida de viabilidad del polen

Ver inciso f) del apartado III

i) Bibliografía reciente de referencia a los datos presentados

Andow, D.A. and C. Zwahlen. 2006. Assessing environmental risks of transgenic plants. Ecology letters 9:196-214

Aylor, D.E. 2002. Settling speed of maize (Zea mays) pollen. Aerosol Sci. 33:1601-1607.

Aylor, D.E. 2004. Survival of maize (*Zea mays*) pollen exposed in the atmosphere. Agricult Forest Meteor 119:111-129

Di-Giovanni, F. and P.G. Kevan. 1991. Factors affecting pollen dynamics and its importance to pollen contamination: a review. Can. J. For. Res. 21: 1155-1170.

Di-Giovanni, F., P.G. Kevan, and M.E. Nasr. 1995. The variability in settling velocities of some pollen and spores. Grana 34: 39-44.

Instituto Colombiano Agropecuario. Comité Técnico Nacional de Bioseguridad. Resolucipon ICA 464/07. Autorización de siembra de maíz con Tecnología Herculex I (TC1507) para Dupont de Colombia SA.

Jones, J.M., and J.S. Brooks. 1950. Effectiveness and distance of border rows in preventing outcrossing in corn. Oklahoma Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. No. T-38.

Kiesselbach, T.A. 1999. The structure and reproduction of corn. 50th Anniversary Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
Luna, S., Figueroa, J., Baltazar, B.M., Gómez, L.R., Townsend, R. and Schoper, J.B. 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. Crop Sci 41:1551-1557.
Ortíz-García, S., Ezcurra, E. B., Shoel, B., Acevedo, F., Soberón, J., and Snow, A. 2005. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico (2003-2004). PNAS 102:12338-12343
Paterniani, E. and A.C. Stort. 1974. Effective maize pollen dispersal in the field. Euphytica 23:129-134.
Sanvido, O., Widmer, F., Winzeler, M., Streit, B., Szerencsits, E. and Bigler, F. 2008. Definition and feasibility of isolation distences for transgenic maize cultivation. Transgenic Res. 17:317-335.
AGBIOS. GM Crop Database. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database&mode=Submit&evidcode=TC1507. 07/2010

IV) MEDIDAS Y PROCEDIMIENTOS DE MONITOREO DE LA ACTIVIDAD Y DE BIOSEGURIDAD A LLEVAR A CABO.

a) Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad:

IV.a.1 Plan de monitoreo detallado

Se realizarán las siguientes actividades de monitoreo desde la siembra hasta la cosecha:

1.- Se realizará monitoreo de la germinación de la semilla.
2.- Se realizará monitoreo de enfermedades, insectos y plagas. Si el ataque de plagas llega al 10 – 15 %, se realizará una aplicación de insecticida.
3.- Se realizará el monitoreo de plantas voluntarias en los alrededores de los sitios de liberación.

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del Riesgo (Anexo VII).

IV.a.2 Estrategias de monitoreo posteriores a la liberación del OGM, con el fin de detectar cualquier interacción entre el OGM y especies presentes relevantes, directa o indirectamente, en la zona o zonas donde se pretenda realizar la liberación, cuando existan y

Se realizarán las siguientes actividades de monitoreo después de la liberación:

1.- Se hará la búsqueda de plantas voluntarias mismas que serán destruidas por trituración, entierro profundo, incorporación al suelo o tratamiento con herbicida.
2.- Se realizará monitoreo cada 2 semanas durante un mes posterior a la cosecha, y cada 4 semanas durante 6 meses (siguiente ciclo), para detectar la germinación de plantas voluntarias.
3.- Todas las plantas voluntarias serán destruidas antes de la floración por trituración, entierro profundo, incorporación al suelo o tratamiento con herbicida.

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del Riesgo (Anexo VII).

IV.a.3 Estrategias para la detección del OGM y su presencia posterior en la zona o zonas donde se pretenda realizar la liberación y zonas vecinas, una vez concluida la liberación

Es posible detectar el/los evento/s mediante cualquiera de los dos siguientes métodos:

Método de detección en campo

La detección del OGM en campo se realiza con tiras de flujo lateral específicas para cada evento, las cuales proporcionan resultados visuales en 3 a 5 minutos.

Método de detección en laboratorio

Ver método de detección validado por el Laboratorio de Referencia de la Comunidad Europea (CRL) en el Anexo IV.

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del Riesgo (Anexo VII).

b) Medidas y procedimientos de bioseguridad

IV.b.1 Medidas y procedimientos para prevenir la liberación y dispersión del OGM fuera de la zona o zonas donde se pretende realizar la liberación.

Se plantea establecer las siguientes medidas de bioseguridad y las que establezcan las autoridades competentes:

Empaque de la semilla

La semilla será empacada en bolsa de plástico hermética y contenida en cajas de cartón. La semilla deberá ser transportada en vehículo cerrado.

Etiquetado

Cada contenedor interno (bolsa) debe llevar una etiqueta con la frase "Material regulado" (ver etiqueta). Esta práctica puede evitar la mezcla inadvertida de material regulado (GM) con material convencional. Las etiquetas contendrán los siguientes datos:

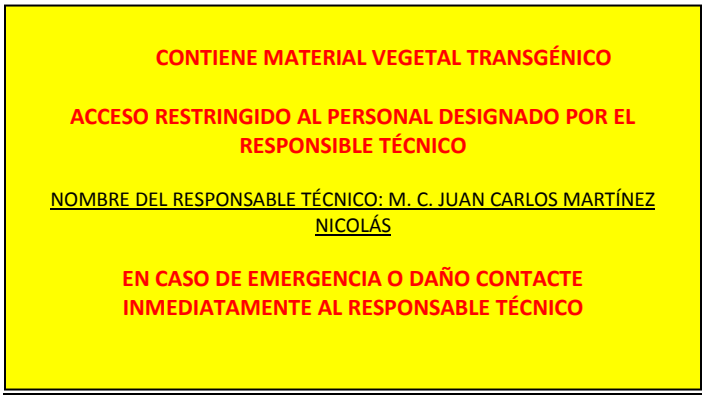
1. Número de Permiso para el movimiento dentro del país (cuando corresponda)
2. Número de Permiso para Importación y/o Certificado Fitosanitario (cuando corresponda)
3. Especie vegetal
4. Forma del material (por ejemplo, semilla, esqueje/vástago, tubérculo, planta entera)
5. Cualquier tratamiento de la semilla u otro tratamiento del material que pueda generar preocupaciones ante la exposición del trabajador.
6. Cantidad de material vegetal regulado.
7. Datos de la persona a contactar en el caso de una liberación accidental

ETIQUETA DE TRANSPORTE DE MATERIAL REGULADO (REGULATED MATERIAL TRANSPORTATION LABEL)	
Cantidad de semilla (Amount of seed) 2.36 kg	**Identificador único o Nombre del evento (Event ID)** DAS-01507-1 x MON-00603-6
No. de Permiso de Liberación (GM corn approval No.) B00.04.03.02.01.8726 (Solicitud No.11)	**Especie vegetal (Specie-Type)** MAIZ GENÉTICAMENTE MODIFICADO
Forma del Material (Type of material) SEMILLA	
Identifique cualquier tratamiento aplicado a la semilla (Chemical treatment) FLUDIOXINIL, METALAXYL	
Persona de contacto en caso de emergencia (Emergency contact) RODOLFO GÓMEZ LUENGO	**Teléfono (Phone number)** 01 (33) 3679-7979

Ejemplo de etiqueta para los contenedores de semilla GM.

Almacenamiento temporal

- La semilla será almacenada en un lugar seguro donde se señalará que dentro del sitio se almacena material genéticamente modificado regulado.
- La semilla genéticamente modificada (GM) permanecerá separada de semilla no regulada con la finalidad de evitar la mezcla involuntaria.
- Se mantendrá señalizado (ver señalización) el sitio de almacenamiento en todo momento.
- Se restringirá el ingreso al sitio de almacenamiento, solo tendrá acceso el personal autorizado.
- El sitio de almacenamiento será custodiado por personal de Pioneer.



Señalización del sitio de almacenamiento temporal de semilla GM.

Disposición final

El grano cosechado será procesado en molino para eliminar la viabilidad y así ser incorporado a la cadena industrial y/o agroindustrial.

Acciones correctivas.

Liberación accidental durante el transporte.

Si por accidente durante el transporte se rompen las cajas o sobres y se dispersa la semilla de maíz GM, inmediatamente se procederá a la recolección del material. Asimismo, se identificará plenamente el sitio del accidente y se establecerá un programa de monitoreo por un período de un año a fin identificar plántulas provenientes de maíz GM y se procederá a su destrucción inmediata por métodos mecánicos o químicos.

Liberación accidental durante la siembra.

Si por accidente se realiza la liberación en un sitio no autorizado, se reportará el incidente inmediatamente a la autoridad. Una vez confirmado que la liberación se ha realizado en sitios no autorizados se deberá recuperar tanto la semilla no germinada como el material vegetal. Se identificará claramente el área del accidente y se aplicará sobre la superficie involucrada un programa de monitoreo por un año y se procederá a la destrucción inmediata de plántulas mediante métodos mecánicos o químicos. Una vez que se han establecido las medidas correctivas de la fase de emergencia, se realizará una revisión para identificar las causas e instituir los cambios necesarios en las prácticas de manejo o entrenamiento adicional en el personal a fin de evitar que se repita la situación.

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del Riesgo (Anexo VII).

IV.b.2 Medidas y procedimientos para disminuir el acceso de organismos vectores de dispersión o de personas que no se encuentren autorizadas para ingresar al área de liberación a dichas zona o zonas.

Ver el siguiente punto.

IV.b.3 Medidas para la erradicación del OGM en zonas distintas a las permitidas

En caso de presentarse una liberación no intencional de la semilla GM en sitios no permitidos, se notificará inmediatamente a las autoridades del SENASICA-SAGARPA. Se deberá recuperar la mayor cantidad posible del material vegetal transgénico; se delimitará y señalizará el área donde ocurrió la liberación no intencional y ésta será controlada de acuerdo con las recomendaciones de bioseguridad la empresa, del SENASICA-SAGARPA y de la PROFEPA-INE-SEMARNAT; se establecerá un programa de monitoreo por un periodo de un año a fin de identificar plántulas provenientes de maíz GM en el área de liberación no intencional, una vez detectadas se procederá a su destrucción. Todas las acciones correctivas adoptadas para resolver la liberación accidental deberán documentarse. Además, se deberá realizar un análisis de la situación para identificar las causas de la liberación no intencional y luego determinar los cambios que sea necesario implementar en las prácticas de manejo para que la situación no se vuelva a presentar.

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del Riesgo (Anexo VII).

IV.b.4 Medidas para el aislamiento de la zona donde se pretenda liberar experimentalmente al OGM

Se propone aislamiento de 300 metros de maíz convencional o aislamiento temporal con 15 días de desfase.

a) Aislamiento espacial

Los ensayos a campo con organismos vegetales genéticamente modificados pueden aislarse reproductivamente de otras plantas de la misma especie o de parientes sexualmente compatibles separándolos con una distancia mínima. En esta fase experimental de siembra de maíz genéticamente modificado se propone como medida de bioseguridad para el no desespigue de las parcelas el aislamiento por distancia, esto con fundamento en estudios de flujo de polen realizados en México con híbridos convencionales no transgénicos, los cuales han demostrado que el aislamiento espacial para lotes contiguos de maíz se puede obtener a una distancia de la fuente de polen de aproximadamente 300 metros (Luna et al. 2001). Los experimentos aquí descritos se sembrarán utilizando como medida de bioseguridad el aislamiento por distancia de 300 metros con respecto a cualquier otro maíz en base a las recomendaciones establecidas por la CONABIO (S.G.P.A./DGIRA.DDT.0191.06; S.G.P.A./DGIRA.DDT.0192.06;.G.P.A./DGIRA.DDT.0193.06; S.G.P.A./DGIRA.DDT.0194.06), alternativamente se manejarán fechas de siembra para obtener el aislamiento mediante desfases en la época de floración de los materiales de prueba con cuaquier material que se pudiere encontrar a sus alrededores en la mencionada distancia.
Todas las plantas de la misma especie o de especies relacionadas presentes en la zona de aislamiento deben ser removidas antes de la antesis o de la formación de la semilla y tratarse de manera tal que resulten inviables.

b) Aislamiento temporal

Bajo ciertas condiciones ambientales, el aislamiento reproductivo de los lugares en los que se realizan los ensayos puede lograrse mediante el aislamiento temporal. Ello requiere escalonar la siembra del ensayo para que la liberación del polen se haya completado totalmente antes o después de la liberación del polen correspondiente de cualquier planta de la misma especie que pueda haberse cultivado dentro de la zona de aislamiento reproductivo.

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del Riesgo (Anexo VII).

IV.b. 5 Medidas para la protección de la salud humana y el ambiente, en caso de que ocurriera un evento de liberación no deseado y,

En caso de que ocurriera una liberación no intencional se tomarán las "medidas para la erradicación del OGM en zonas distintas a las permitidas".

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del Riesgo (Anexo VII).

IV.b. 6 Métodos de limpieza o disposición final de los residuos de liberación.

Disposición final del OGM.

La semilla remanente que resulte de la limpieza o acondicionamiento será destruida. Los residuos de rastrojo se incorporarán al suelo.

El grano cosechado será procesado en molino para eliminar la viabilidad y así ser incorporado a la cadena industrial y/o agroindustrial.

Limpieza del equipo de campo.

Antes de entrar al lugar del ensayo, el equipo utilizado para sembrar o plantar ensayos de campo confinados debe dejarse limpio de todo material vegetal, incluyendo semillas y cualquier material que pudiera haber quedado como consecuencia de las tareas realizadas con anterioridad. Igualmente, todos los equipos utilizados para sembrar o plantar el ensayo o los utilizados en las prácticas culturales deben ser limpiados en el lugar del ensayo para eliminar el traslado accidental y la liberación no intencional de material experimental. Los métodos de limpieza pueden incluir limpieza manual, con aire comprimido o con agua a alta presión.

También es importante que el personal que trabaja dentro del lugar del ensayo se asegure antes de salir del lugar que sus ropas y calzado estén limpios de semillas, polen u otro material vegetal.

El material vegetal residual proveniente del proceso de limpieza del equipo empleado en el ensayo, debe someterse a tratamientos que lo hagan inviable; se puede emplear calor seco o de vapor, la trituración, incineración o el tratamiento con herbicidas y/o compuestos químicos debidamente etiquetados. Aunque puede ser aceptable transportar material desde el sitio del ensayo para su destrucción fuera del mismo (por ejemplo, autoclave en un laboratorio), se recomendara que el material sea eliminado en el mismo lugar en que se realiza el ensayo para limitar la posibilidad de una liberación accidental.

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del Riesgo (Anexo VII).

V) ANTECEDENTES DE LIBERACIÓN DEL OGM EN OTROS PAÍSES CUANDO ESTO SE HAYA REALIZADO, DEBIENDO ANEXAR LA INFORMACIÓN PERTINENTE CUANDO ESTA SE ENCUENTRE AL ALCANCE DEL PROMOVENTE:

a) Descripción de la zona donde se realizó la liberación

El evento ha sido aprobado para su liberación al ambiente en Estados Unidos y Canadá

La legislación en el país de origen (Estados Unidos de Norteamérica) no requiere carta de aprobación por la USDA para eventos que se han apilado de manera convencional o tradicional, si los eventos individuales han sido aprobados previamente.

Ver documento de aprobación por la Plant Biosafey Office de la Canadian Food Inspection Agency en el Anexo VIII.

b) Efectos de la liberación sobre la flora y fauna

Ver inciso f) del apartado III

c) Estudio de los posibles riesgos de la liberación de los OGMs presentado en el país de origen, cuando haya sido requerido por la autoridad de otro país y se tenga acceso a él. La descripción de las medidas y procedimientos de monitoreo de bioseguridad establecidos deberá incluirse en el estudio.

Ver Anexo V: Finding of No Significant Impact: corn line 1507.

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

d) Otros estudios o consideraciones en los que se analice la contribución del OGM a solución de problemas ambientales, sociales, productivos, etc, así como consideraciones socioeconómicas que existan respecto a la liberación de OGMs al ambiente

La agricultura intensiva en general ha sido una actividad que ha causado más problemas a la biodiversidad en los agroecosistemas modernos. En general a mayor intensificación de las labores agrícolas se han encontrado mayores reducciones en biodiversidad en estos ecosistemas (Ammann, 2005).

El establecimiento de maíz GM en los campos agrícolas favorecen las labores de conservación. Este tipo de prácticas no solo reduce el uso de combustibles fósiles al realizar menos labores de labranza (con la consiguiente disminución de emisiones de contaminantes en el aire), si no también reduce ampliamente la erosión del suelo por viento y flujo de agua a la vez de beneficiar la fertilidad del suelo. Las labores de conservación también disminuyen la degradación del suelo y además reduce la lixiviación de productos agrícolas, al mismo tiempo reducen la necesidad de fertilizante y agua de irrigación con lo cual se incrementa la limpieza y seguridad del agua de ríos, corrientes y pozos.

Se prevé que mediante el uso de esta tecnología se reducirá el uso de productos químicos ayudando a la protección del medio ambiente y a aumentar la seguridad de los trabajadores de campo.

Desde que el maíz GM fue introducido en los campos agrícolas (1996), el volumen promedio de insecticidas ha disminuido en 1 millón de kg de ingrediente activo, lo que representa un 11% de total (Brookes G. 2005).

Los eventos DAS-01507-1 confiere protección a las tres principales plagas que atacan al maíz en nuestro país: resistencia a barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y resistencia moderada de gusano elotero (*Helicoverpa zeae*). El evento MON810 confiere protección contra gusano barrenador *(Diatraea grandiosella)* y *Sesamia cretica*. Las proteínas Bt han sido usadas de forma segura por casi 40 años en insecticidas microbianos.

El evento MON-00603-6 incorporado al maíz le confiere tolerancia al herbicida con el ingrediente activo Glifosato, simplificando el control de las malezas al permitir su implementación en lotes donde antes, era extremadamente difícil hacerlo.

Entre las principales ventajas del maíz con el evento MON-00603-6 están: la flexibilidad para definir el momento de control, la posibilidad de incrementar el área de maíz en zonas con problemas de malezas, la practicidad operativa y la posibilidad de contar con un "seguro" en el caso de escapes no previstos de alguna maleza.

Los efectos negativos que las malezas ejercen sobre los cultivos pueden mencionarse, entre otros:
- La competencia por agua y nutrientes, que se magnifica en la etapa inicial del cultivo,
- La dificultad para realizar la cosecha,
- La contaminación del maíz cosechado.

e) En caso de importación, copia legalizada o apostillada de las autorizaciones o documentación oficial que acredite que el OGM esta permitido conforme a la legislación del país de origen

La legislación en el país de origen (Estados Unidos de Norteamérica) no requiere carta de aprobación por la USDA para eventos que se han apilado de manera convencional o tradicional, si los eventos individuales han sido aprobados previamente.

En el Anexo IX se encuentra la aprobación por la USDA para el evento individual DAS-01507-1.

VI) CONSIDERACIONES SOBRE LOS RIESGOS DE LAS ALTERNATIVAS TECNOLÓGICAS CON QUE SE CUENTE PARA CONTENDER CON EL PROBLEMA PARA EL CUAL SE CONSTRUYÓ EL OGM EN CASO DE QUE TALES ALTERNATIVAS EXISTAN

Alternativas Tecnológicas para Contender con la Resistencia a Insectos Lepidópteros.

Las alternativas tecnológicas al evento genéticamente modificado DAS-01507xMON-00810-6xMON-00603-6 para el control de algunos insectos lepidópteros incluyen el manejo de insecticidas, principalmente aquellos que contienen los ingredientes activos de las familias de los organofosforados, carbamatos y piretroides.

Se cuenta actualmente con una gran variedad de marcas en el mercado siendo usualmente la presentación en granulados los de mayor uso para el control de insectos coleópteros.

Organofosforados

Los organofosforados son un grupo de pesticidas artificiales aplicados para controlar las poblaciones plagas de insectos. Los primeros pesticidas organofosforados que se introdujeron al mercado fueron el paratión y el malatión, organofosforados que se consolidaron como insecticidas principalmente agrícolas y su uso se incrementó enormemente con la prohibición del uso de los pesticidas organoclorados.

Los organofosforados son sustancias orgánicas de síntesis, conformadas por un átomo de fósforo unido a 4 átomos de oxígeno o en algunas sustancias a 3 de oxígeno y uno de azufre. Una de las uniones fósforo-oxígeno es bastante lábil y el fósforo liberado de este "grupo libre" se asocia a la acetilcolinesterasa inhibiendo la transmisión nerviosa y provocando la muerte. Sus características principales son su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos, característica que lo posiciona en ventaja con respecto a los organoclorados de baja degradabilidad y gran bioacumulación.

Se han registrado desde hace varias décadas gran cantidad de casos de resistencia de insectos a los organofosforados, debido principalmente al uso excesivo de estos insecticidas. Además, existe resistencia

cruzada con los carbamatos. Esto quiere decir que la resistencia a carbamatos trae aparejada resistencia a los organosfosforados, y viceversa. Debido a estos grandes problemas debemos ser en extremo cuidadosos con el uso de estos insecticidas y no sobrecargar al cultivo con los mismos.

Endosulfán, malatión, metamidofos, paratión, lindane, etc. son algunos de los organofosforados que han salido al mercado. Actualmente muchos organofosforados han sido prohibidos en el mundo y continuamente aumenta esta lista.

Carbamatos

Los carbamatos son sustancias orgánicas de síntesis conformadas por un átomo de nitrógeno unido aun grupo lábil, el ácido carbámico. Este tiene un efecto neurotóxico que, en la dosis correspondiente, conlleva a la muerte. Sus características principales son su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos, característica ésta que lo posiciona en ventaja con respecto a los organoclorados de baja degradabilidad y gran acumulación.

Existen muchos casos de resistencia de insectos a carbamatos producto principalmente de un uso excesivo de estos insecticidas. Por otra parte, la resistencia generada por los organofosforados, otro grupo de insecticidas, conlleva resistencia a los carbamatos, y viceversa. Por lo tanto, hay que ser muy cuidadoso en el empleo de los insectidas y no sobrecargar el cultivo con un solo tipo de insecticida.

Piretroides

Los piretroides son un grupo de pesticidas artificiales desarrollados para controlar preponderantemente las poblaciones de insectos plaga. Este grupo surgió como un intento por parte del hombre de emular los efectos insecticidas de las piretrinas naturales obtenidas del crisantemo, que se venían usando desde 1850.

La obtención de piretrinas sintéticas (denominadas piretroides, es decir, “semejantes a piretrinas”), se remonta a la fabricación de la Aletrina en 1949. Desde ese entonces su uso se ha ido ampliando en la medida en que los demás pesticidas eran acusados de alta residualidad, bioacumulación y carcinogénesis (organoclorados) y por otra parte el alto efecto tóxico en organismos no plaga y en mamíferos (carbamatos y organofosforados). Los piretroides, en cambio, no poseen estas desventajas y debido a las bajas cantidades de producto necesarias para combatir las plagas su costo operativo es más que conveniente.

Debido a las ventajas antes señaladas, los piretroides son actualmente una de las principales armas elegidas por los productores agropecuarios. Su acción, como casi todos los insecticidas, es a nivel sistema nervioso, generando una alteración de la transmisión del impulso nervioso.

Al contrario de los organoclorados, los carbamatos y los organofosforados, no existen muchos casos de resistencia de insectos a piretroides. Sin embargo, como con todos los insecticidas, es recomendable un uso moderado de los mismos alternando los distintos tipos de insecticidas y usando las cantidades mínimas necesarias.

Aletrina, cypermetrina, permetrina, resmetrina, tetrametrina, etc. son algunos de los piretroides que han salido al mercado.

Alternativas Tecnológicas para Contender con la Tolerancia al Herbicida Glifosato.

La alternativa tecnológica para contender con la tolerancia al herbicida con el ingrediente activo glifosato que provee el evento MON-00603-6 corresponde a la aplicación de herbicidas de manera convencional, por ejemplo el herbicida con el ingrediente activo glifosato.

El glifosato (sal isopropil amina del ácido N fosfonometil glicina) es uno de los herbicidas sistémicos, con un amplio espectro, no selectivo que generalmente es utilizado para matar plantas no deseadas como pastos, hierbas de hoja ancha y leños, ya que presenta alta eficacia controlando esa maleza, a pesar de ello es necesario usar una dosis relativamente alta y las normalmente las aplicaciones son de a por temporada y deben realizarse en un momento oportuno. Es un agroquímico altamente soluble en agua (12 gr/lt a 25°C), que permanece en el agua en estado iónico, se adhiere a partículas orgánicas, persiste de 12 a 60 días en aguas estancadas y su vida media en sedimentos puede variar en alrededor de 120 días aproximadamente.

Referente a los tipos de glifosato o productos alternativos se tiene: ROUNDUP®, Rodea®, Accord®, Kleen up®, entre otros.

En contra parte se tiene que los residuos de los herbicidas que se utilizan comúnmente en la producción de maíz y de soya son frecuentemente detectados en ríos, arroyos y embalses en concentraciones que exceden el estándar para agua potable en las áreas donde estos cultivos se siembran extensivamente.

En un estudio de cuatro años, los investigadores del USDA-ARS North Appalachian Experimental Watershed, cerca de Coshocton, Ohio, compararon las pérdidas relativas de varios tipos de herbicidas en siete pequeñas reservas de agua y llegaron a la conclusión de que los residuos que se filtran a los suelos y al agua por causa de los herbicidas usados en maíz GM fueron mucho menores a las de los herbicidas tradicionales.

Teniendo en cuenta el incremento en la producción de estos cultivos (OGM´s) debido a la demanda creciente de alimento y biocombustibles, lo anterior sugiere a los productores y a las autoridades que las pérdidas de herbicidas y su concentración en los sistemas acuáticos a donde deriva, se pueden reducir con el uso de variedades genéticamente modificadas tolerantes a herbicidas.

El establecimiento de maíz GM en los campos agrícolas favorecen las labores de conservación. Este tipo de prácticas no solo reduce el uso de combustibles fósiles al realizar menos labores de labranza (con la consiguiente disminución de emisiones de contaminantes en el aire), si no también reduce ampliamente la erosión del suelo por viento y flujo de agua a la vez de beneficiar la fertilidad del suelo. Las labores de conservación también disminuyen la degradación del suelo y además reduce la lixiviación de productos agrícolas, al mismo tiempo reducen la necesidad de fertilizante y agua de irrigación con lo cual se incrementa la limpieza y seguridad del agua de ríos, corrientes y pozos.

Se prevé que mediante el uso de esta tecnología se reducirá el uso de productos químicos ayudando a la protección del medio ambiente y a aumentar la seguridad de los trabajadores de campo.

Desde que el maíz GM fue introducido en los campos agrícolas (1996), el volumen promedio de insecticidas ha disminuido en 1 millón de kg de ingrediente activo, lo que representa un 11% del total (Brookes G. 2005).

VII) NÚMERO DE AUTORIZACIÓN EXPEDIDA POR SALUD CUANDO EL OGM TENGA FINALIDADES DE SALUD PUBLICA O SE DESTINE A LA BIORREMEDIACIÓN.

La COFEPRIS emitió el 03 de agosto del 2010, el documento aprobatorio para maíz con los eventos apilados DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 con número de folio 093300913X0014.

Ver Autorización en Anexo X.

VIII) PROPUESTA DE VIGENCIA PARA EL PERMISO Y LOS ELEMENTOS EMPLEADOS PARA DETERMINARLA

La propuesta de vigencia del permiso de liberación al ambiente es de un año a partir de la fecha en que se otorgue el permiso para la siembra, debido a que los ciclos de siembra, los movimientos de importación de semilla y los requisitos regulatorios en conjunto suman ese periodo.