



**PHI MÉXICO SA DE CV
DOW AGROSCIENCES DE MEXICO SA DE CV**

INFORMACIÓN NO CONFIDENCIAL

Solicitud de Liberación Experimental al Ambiente de Maíz
Genéticamente Modificado con el Evento

DAS-01507-1 x MON-00603-6

Para las regiones de Angostura, Batauto, Guasave, Los
Mochis y Navolato en el estado de Sinaloa

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

Mayo del 2010

I) CARACTERIZACIÓN DEL OGM

a) Identificador único del evento de transformación.

Nombre científico: *Zea mays* L.

Nombre común: Maíz

Nombre Comercial: HX1xRR2 (1507xNK603).

Identificador Único de la OCDE: DAS-01507-1 x MON-00603-6.

El maíz GM que fue convertido es un híbrido marca Pioneer™, que fue convertido mediante la cruce convencional con las líneas parentales GM DAS-01507-1 y MON-00603-6 para generar el maíz con los eventos apilados 1507xNK603.

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 reportado 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.	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 ■	acece 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 (correcominos). 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 (correcominos)	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.

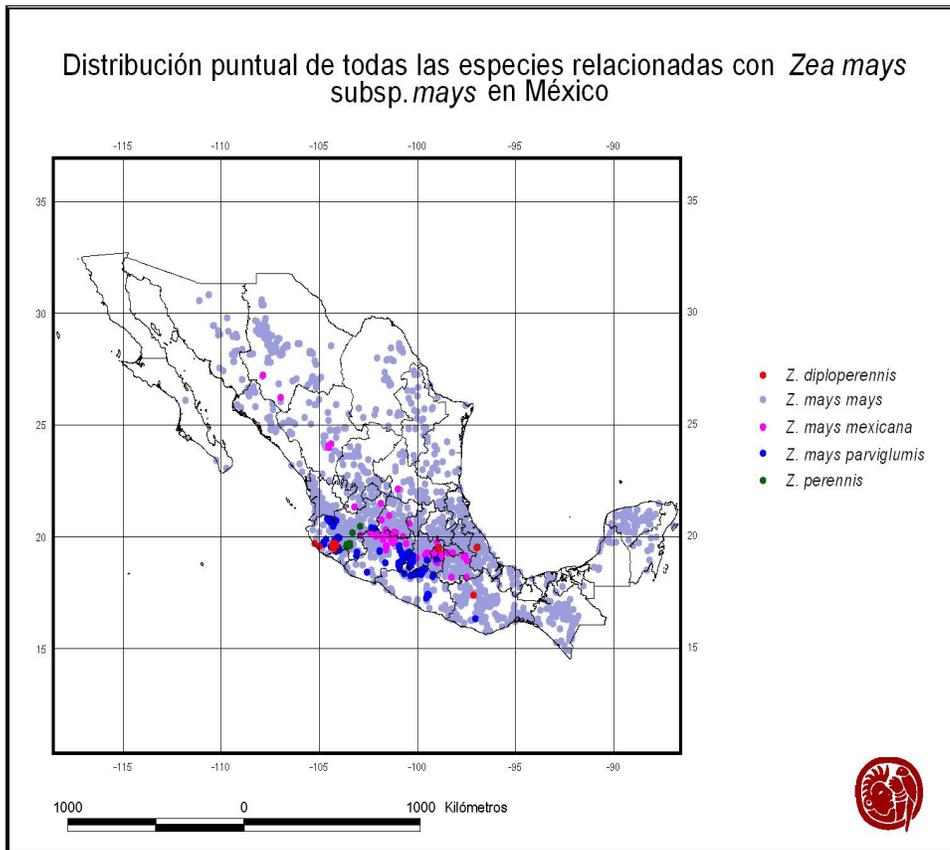


Figura 1. Distribución Puntual de todas las especies relacionadas con *Zea mays* subsp *mays* en México.

www.conabio.gob.mx

Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM)

Proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad

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 cruces 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 (Doebly 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 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 cruces es generalmente estéril.

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

Organismo receptor

Nombre Común; Maíz

Nombre Científico; *Zea mays* L

Clase: Angiosperma

Subclase; Monocotiledónea

Orden; Graminales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Panicoideae

Tribu: Maydeae

Genero: *Zea*

Especie: *mays*

El maíz (*Zea mays* L.) es una especie monocotiledónea anual que pertenece al género *Zea*. A diferencia de los demás cereales, es una especie monoica, lo que significa que sus inflorescencias, masculina y femenina, se ubican separadas dentro de una misma planta por lo que tiene la capacidad de autofecundarse y de efectuar polinización cruzada. Por consiguiente, existe la posibilidad de que la diseminación de genes se lleve a cabo vía el cruzamiento con otras parcelas de maíz cultivado o con especies silvestres.

Organismos donadores

Nombres Científicos:

Bacillus thuringiensis var. *aizawai*

Streptomyces viridochromogenes

Agrobacterium tumefaciens.

Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV).

Streptomyces viridochromogenes.

Oryza sativa

Arabidopsis thaliana.

Agrobacterium sp. Cepa CP4.

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

Todos los experimentos de transformación y construcción genética fueron desarrollados en los laboratorios de las empresas Pioneer Hi-Bred International ubicada en 7100 NW 62nd Ave. P.O. Box 1014, Johnston, I.A. U.S.A. y Mycogen Seeds c/o Dow AgroSciences. LLC, ubicada en 9330 Zionsville Road, Indianápolis, I.N. U.S.A.

La línea apilada 1507 × NK603 fue desarrollado por Pioneer Hi-Bred International, Inc (USA). Las líneas parentales del del gen Cry1F de la línea 1507 se han desarrollado conjuntamente por Dow AgroSciences LLC (USA) y Pioneer Hi-Bred International, Inc (USA), y el evento NK603 fue desarrollado por Monsanto Company (USA). La línea apilada 1507 × NK603 es un híbrido creado a través de métodos convencionales mediante el cruzamiento de las líneas puras 1507 y NK603.

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

Mycogen Seeds
c/o Dow AgroSciences LLC
9330 Zionsville Road
Indianapolis, IN
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 .

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

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.

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

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

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.

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

El gen *cry1F* (gen que proporciona resistencia a algunos Insectos lepidópteros)

La proteína con propiedades insecticidas motivo de esta solicitud es una proteína CRY1F truncada derivada de la cepa PS81I (NRRL B-18484) de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*. La versión sintética truncada del transgen *cry1F* optimizada para ser utilizada en plantas se utilizó para transformar la planta de maíz, resultando en expresiones del gen, en plantas transgénicas, a niveles suficientes para el control del gusano barrenador Europeo (ECB). La proteína con propiedades insecticidas codificada por el transgen sintético es idéntica en secuencia de residuos de aminoácidos a la proteína original, con excepción de la substitución de un aminoácido (Figura 14). Durante la formación de la toxina activa de Cry1F proveniente de la prototoxina completa 569 aminoácidos terminales son removidos de la parte terminal C (C-terminal) mediante el proceso de alcalinización con proteasas que se encuentran presentes normalmente en el sistema digestivo de los insectos. Codones para estos residuos de aminoácidos en la parte C-terminal no fueron incluidos en el diseño de la secuencia del transgene sintético. La descripción completa de los elementos genéticos de la construcción genética de *cry1F*, incluyendo los elementos de expresión y los marcadores selectivos se presenta en la Tabla 2.

El gen *pat* (gen selectivo y resistente a glufosinato)

La Proteína Fosfonitrocinasa Acetiltransferasa (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 tóxica 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).

HERENCIA MENDELIANA 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 10). 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 homocigota dos veces más para producir la semilla BC2F1. La aplicación del herbicida glufosinato en cada generación ayudó a eliminar las plantas susceptibles y obtener semilla homocigota.

Fue sembrada la semilla de la generación BC2F1, y se le aplicó glufosinato. La segregación esperada fue de 1:1 (resistente: susceptible) para tolerancia a glufosinato. En la Tabla 4 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 heterocigotas 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 4.

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 *cry1F* esta presente en plantas de la retrocruza BC4, apoya la conclusión que esta genéticamente ligado a copias completas de los genes *cry1F* 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 *cry1F* están presentes en las plantas utilizadas en la prueba.

Expresión de los genes insertados

Durante el ciclo 1998/1999 se realizó un estudio de campo en Chile para generar hojas, polen, jilote, tallo, planta completa, grano y planta total en estado de senescencia de la línea DAS-01507-1 y un control equivalente. Los niveles de las proteínas Cry1F y PAT en estos tejidos fueron medidos utilizando el método de ELISA (Ensayo de Enzima de Inmunoabsorcencia Ligado) desarrollado para cada proteína. El estudio fue realizado en cuatro sitios localizados en cuatro de las más importantes zonas maiceras de Chile. La localización de los experimentos fue cerca de Buin, Viluco, Graneros y Nancagua. Estas cuatro localidades se pueden comparar con localidades de Estados Unidos donde las líneas de maíz van a ser productos comerciales.

Expresión de la proteína Cry1F

Las concentraciones de proteína Cry1F cuantificadas en ELISA fueron expresadas en pg/μg de proteína total y los resultados son resumidos en la Tabla 5. El análisis demuestra que la expresión de la proteína Cry1F se encuentra en niveles mediales en todas las muestras analizadas. La expresión de la proteína Cry1F estuvieron por debajo de los límites detectables en los testigos.

Tabla 2. Resumen de los niveles de la proteína Cry1F determinados en tejido de plantas de la línea de maíz híbrida 1507

Tejido	Media ¹ Cry1F (pg/μg proteína total)	Desviación estándar	Rangos min/max
Hoja	110.9	27.2	56.6 – 148.9
Polen	135.5	13.5	113.4 – 168.2
Jilote	50.3	16.5	26.8 – 79.8
Tallo	550.0	104.0	355.9 – 737.4
Planta Total	1063.8	361.7	803.2 – 1572.7
Grano	89.8	23.3	71.2 – 114.8
Planta total Senesciendo	714.3	95.5	622.2 – 845.3

--	--	--	--

¹ Los valores representan las medias de cuatro localidades de medias del análisis de cinco muestreos por localidad para hoja, polen, jilote, tallo, grano y una sola muestra por sitio para ambas muestras de plantas totales.

Expresión de la proteína PAT

Las expresiones de la proteína PAT fueron expresadas en pg/μg de proteína total y los resultados se presentan en la Tabla 6. Los niveles de expresión de la proteína PAT fueron solamente detectados en cantidades medibles en muestras de hoja. Los niveles de expresión de la proteína PAT estuvieron por debajo de los valores de detección en todas las muestras de tejidos de los testigos, sin embargo hemos confirmado que la expresión de la proteína en todos los tejidos es expresada en cantidades suficientes para conferir tolerancia a aplicaciones totales del herbicida glufosinato.

Tabla 3. Resumen de niveles de proteína PAT medidos en tejido colectado de la línea de maíz híbrida 1507

Tejido	Media ¹ PAT (pg/μg proteína total)	Desviación estándar	Rangos min/max
Hoja	<LOD ²	NA ³	<LOD – 40.8
Polen	<LOD	NA	<LOD
Jilote	<LOD	NA	<LOD
Tallo	<LOD	NA	<LOD
Planta Total	<LOD	NA	<LOD
Grano	<LOD	NA	<LOD
Planta total Senesciendo	<LOD	NA	<LOD

¹ Los valores representan las medias de cuatro localidades de medias del análisis de cinco muestreos por localidad para hoja, polen, jilote, tallo, grano y una sola muestra por sitio para ambas muestras de plantas totales.

² <LOD = abajo de los niveles de detección, LOD = <20 pg/μg proteína total

³ NA = no aplica.

h) Descripción del método de transformación

EVENTO DAS-01507-1

Plantas de maíz *Bt Cry1F* fueron obtenidas a través del método de bombardeo de microproyectiles usando la pistola de genes Biolistics[®] PDS-1000He manufacturada por Bio-Rad, prácticamente como lo describe Klein *et al.* (1987). El primer paso consistió en colocar embriones inmaduros aislados de maíz cosechados después de la polinización por varios días en medio de cultivo para propiciar la formación de callo. El mismo día que se realizó la transformación, partículas microscópicas de tungsteno fueron impregnadas con ADN purificado de PHI8999A y bombardeado sobre los cultivos de embriones, donde el inserto de ADN fue incorporado en los cromosomas de las células. Solamente se utilizó el ADN de PHI8999A durante el proceso de transformación. Después del bombardeo, los embriones fueron transferidos al medio de cultivo, que contenía glufosinato, como agente de selección para la iniciación de la formación de callos y que permitiera seleccionar plantas transformadas. Los embriones fueron mantenidos individualmente bajo condiciones de esterilidad y la gran mayoría de las plántulas murieron en el medio selectivo por efecto del glufosinato.

Los embriones que sobrevivieron y produjeron callos resistentes al glufosinato se les asignó una identificación especial codificada los cuales representaban eventos con el gen de interés, los cuales fueron transferidos frecuentemente a medio fresco de selección. Las plantas fueron regeneradas de tejido de cada evento en particular y transportadas al invernadero. Para confirmar la presencia y la expresión del gen se corrieron muestras de tejido de las plantas mediante PCR y ELISA, respectivamente. Las plantas fueron después expuestas a pruebas *in vivo* usando larvas del gusano barrenador Europeo (ECB). Las plantas positivas para la presencia y expresión del gen *cry1F* fueron cruzadas con líneas homocigotas para obtener semilla de las plantas inicialmente transformadas. Un gran número de plantas fueron evaluadas en campo. La línea 1507 fue seleccionada por sus características agronómicas y su excelente resistencia a algunas especies de insectos lepidópteros.

El germoplasma utilizado como receptor inicial de los genes agregados que generó el evento TC1507 es una línea de maíz disponible públicamente denominada Hi-II. La línea Hi-II es un cruzamiento entre las líneas de maíz endogámicas A188 y B73. Se trata de líneas endogámicas disponibles públicamente desarrolladas por la Universidad de Minnesota y por la Universidad del Estado de Iowa, respectivamente. El material "Hi-II" se desarrolló con el propósito de obtener un potencial de regeneración más elevado durante las etapas de cultivo de tejidos, pero no presenta un rendimiento comercial aceptable.

El evento con líneas acumuladas 1507xNK603 ha sido obtenido por métodos tradicionales de mejoramiento mediante la cruce de las dos líneas de maíz genéticamente modificadas mencionadas. No se introdujo ninguna modificación adicional en la línea 1507xNK603.

El germoplasma utilizado como receptor inicial de los genes agregados que generó el evento TC1507 es una línea de maíz disponible públicamente denominada Hi-II. La línea Hi-II es un cruzamiento entre las líneas de maíz endogámicas A188 y B73. Se trata de líneas endogámicas disponibles públicamente desarrolladas por la Universidad de Minnesota y por la Universidad del Estado de Iowa, respectivamente. El material "Hi-II" se desarrolló con el propósito de obtener un potencial de regeneración más elevado durante las etapas de cultivo de tejidos, pero no presenta un rendimiento comercial aceptable.

En el caso del evento NK603 el receptor fue la línea de maíz endogámica obtenida del cruzamiento LH82 x B73. La línea de eventos acumulados 1507xNK603 se creó mediante el cruzamiento convencional de materiales de maíz que contienen ambos eventos originales.

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

EVENTO DAS-01507-1

Una ruta metabólica es una serie de reacciones químicas que ocurren dentro de una célula catalizadas por enzimas, para formar un producto metabólico cuyo objetivo puede ser su utilización o almacenamiento en la célula, o la iniciación de otra ruta metabólica. Muchas de estas rutas son elaboradas e involucran una modificación paso a paso de la sustancia inicial para darle la forma del producto con la estructura química deseada. La ruta metabólica consta

de un principio, una parte intermedia, y una final, donde se necesitan sustratos y enzimas para obtener un producto metabólico.

Al igual que otras proteínas Cry, no se ha informado de que la proteína Cry1F actúe como enzima en cualquier órgano de la planta. Se ha reportado que la proteína PAT muestra una muy alta especificidad de sustrato contra el L-glufosinato, el ingrediente activo del herbicida glufosinato, sin embargo no selecciona por sustrato al D-glufosinato, un isómero óptico del L-glufosinato. Por consiguiente, ni las proteínas Cry1F ni las proteínas PAT interfieren en las rutas metabólicas del organismo receptor (JBCH, 2002).

PAT

La fosfotricina, 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)

El gen de tolerancia al glufosinato de amonio insertado en el maíz con la línea 1507 codifica para la enzima fosfotricina acetiltransferasa (PAT). Esta enzima desintoxica la fosfotricina por acetilación en un compuesto inactivo. La fosfotricina acetiltransferasa **tiene una alta especificidad de sustrato** y los datos incluidos en la solicitud demuestran que no acetilan otras enzimas o proteínas (CFIA, Oct 2002).

CRY1F

No es conocido que el maíz con la línea 1507 segregue ninguna sustancia nociva de las raíces que podrían tener efectos adversos en el entorno de las plantas y/o microorganismos en el suelo. Asimismo, no se sabe que el maíz produzca cualquier aleloquímico después de la muerte que podría afectar a otras plantas. Se ha reportado que la proteína Cry1F **no funciona como enzima** en la planta del mismo modo que las demás proteínas Cry en *Bacillus thuringiensis* y también que la proteína PAT posee muy alta especificidad de sustrato (JBCH, 2002).

Además, como resultado de las pruebas de campo para examinar la morfología, el crecimiento, las características de propagación y el análisis de los principales componentes o constituyentes trazas, en todos los elementos examinados, no se observaron diferencias significativas entre la línea 1507 y el maíz no recombinante, y no se muestra implícitamente la posibilidad de que la introducción de los genes y las proteínas pueden afectar la ruta metabólica del maíz del organismo receptor y causar cambios inesperados (JBCH, 2002).

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.](#)

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

EVENTO DAS-01507-1

Con la intención de confirmar 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 podrían ser atribuidas al cultivo del maíz recombinante (JBCH, 2002).

CRY1F

El gen *cry1F* expresado en el maíz con la línea 1507 está enlazado a un promotor constitutivo, (es decir, resulta en la expresión en todos los tejidos del maíz). La expresión de la proteína *Cry1F* se determinó a partir de plantas cultivadas en Canadá, USA, Europa y Chile. Los niveles de proteína *Cry1F* detectada en maíz cultivado en esos lugares muestra un rango de valores. Cabe mencionar que se esperan diferencias en la expresión de la proteína debido a las diferencias en el clima y en el medio ambiente en esos lugares. Los valores oscilaron entre 61 a 348 pg de proteína *Cry1F* por μgr en proteínas vegetales de hoja, de 126 a 190.5 pg de proteína *Cry1F* por μg de proteínas en el polen de la plantas, de 37 a 133 pg de proteína *Cry1F* por μg de proteína vegetal en la seda, de 550 a 1450 pg de proteína *Cry1F* por μg de proteína vegetal en el tallo y de 89.8 a 116 pg de proteína *Cry1F* por μg de proteína vegetal en grano (CFIA, Oct 2002).

Además, la proteína no es probable que se presente en el agua potable porque la proteína se despliega en cantidades minúsculas en la planta. También 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. Estos resultados son consistentes con los de la proteína *Cry1A* (b) utilizando básicamente el mismo diseño experimental, en donde se reportó una DT_{50} de 1.6 días. (USDA/APHIS, 2001)

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 DT_{50} (tiempo para degradar el 50% de las propiedades insecticidas original), 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).

PAT

El gen *pat* fue originalmente aislado de *Streptomyces viridochromogenes*, una bacteria aeróbica actinomiceta del suelo. La enzima PAT es, por tanto, la enzima natural en el suelo. En términos más generales, las enzimas acetiltransferasa son ubicuas en la naturaleza (CFIA, Oct 2002).

El gen *pat* se vincula a un promotor constitutivo. La expresión del gen *pat* en el híbrido de maíz con la línea 1507 fue evaluada en hojas, polen, el tallo y el grano. Para todas las muestras de tejidos tomadas en el Canadá, Chile y USA, los niveles de proteína PAT estaban por debajo del límite de detección. El límite de detección fue de 7,5 pg/μg de proteína total de muestras analizadas de Canadá, y de 20 pg/μg de proteína total para las muestras procedentes de los otros lugares. Los niveles de PAT en Europa estuvieron todas por debajo del límite de detección a excepción de la hoja en que había una media en el nivel de expresión PAT de 42 pg/μg de proteína total (El límite de detección fue de 20 pg/μg de proteína total) (CFIA, Oct 2002).

Para la degradación de la proteína PAT, se ha referenciado en estudios anteriores que la proteína es degradada en 5 segundos en el fluido gástrico simulado (EFSA, 2005)

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.](#)

k) Patogenicidad o virulencia de los organismos donadores y receptores

La fuente del gen *cryIF* 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 de lepidópteros, pero no tóxicas a humanos o animales. Estudios han demostrado que tres serotipos de *Bt* son patógenos oportunistas en ratones después de haber sido expuestos a inhalación (Hernandez, *et al.*, 1999). Sin embargo mutantes de estos serotipos que no produjeron la proteína cristalina fueron también patogénicos, lo cual confirma que la proteína cristalina *Cry1F* no fue funcionalmente ligada a la patogenicidad de estos serotipos.

ALERGENICIDAD

Evento DAS-01507-1

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*, incluyendo alergenicidad ocupacional asociada con la elaboración de productos conteniendo *Bt* (EPA, 1995). Las formulaciones microbianas a base de *Bt* han sido utilizadas en un gran número 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 alérgeno (Van Wert, 1994).

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 significativa homología 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 de *Bacillus thuringiensis*, incluyendo alergias ocupacionales incluyendo alergias asociadas con la elaboración de los productos conteniendo *Bt* (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. 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 pepsin: Cry1F a 1:1, 000,000 pepsin: Cry1F. Convertido a molaridad, este corresponde a rangos de 1:2 a 1:1, 883,000, respectivamente. A molaridades de 1:100, una proteólisis 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. La proteína PAT también 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 fue mezclada con líquido gástrico simulado (pH 2.0) conteniendo aproximadamente 0.3% pepsina (peso/volumen). Proteínas y fragmentos digeridos (si presentes) que fueron separados electroforéticamente y visualizados con azul de Coomassie en el gel. Bajo condiciones de este estudio, la proteína microbiana PAT fue completamente digerida dentro de cinco segundos en las condiciones simuladas gastrointestinales indicando muy poca estabilidad del ambiente simulado gastrointestinal. (Ver **Anexo III**. Opinion of the scientific panel. EFSA)

Evento MON-00603-6

Se realizó una comparación con alérgenos conocidos y no se encontró homología entre CP4 EPSPS y proteínas alérgicas cuando fueron comparados con 567 secuencias proteicas usando 8 aminoácidos. En otro estudio la proteína CP4 EPSPS fue rápidamente degradada (T50 < 15 seg) al ser expuesta al fluido gástrico simulado conteniendo pepsina o tripsina (T50 <= 10 min).

TOXICIDAD

Evento DAS-01507-1

El estudio de toxicidad de la proteína Cry1F en humanos y animales fue realizado en estudio oral-agudo (Kuhn, 1998). La proteína Cry1F aislada de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* δ -endotoxina 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 carboximetilcelulosa (CMC) en dos dosis con un total de 33.7 ml/kg peso en cuerpo. 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 gross necropsis. No se observó mortalidad durante el estudio. No se observaron señales clínicas durante el estudio y no se notaron irregularidades al momento de la necropsia. El LD₅₀ en el estudio fue determinado como mayor de 5050 mg/kg. Cuando la purezas del material de prueba se ajustó (11.4%), el LD₅₀ 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 *cry1F* (Wolt, 1999). Esto supone que el 100% del cultivo de maíz produce proteína Cry1F y la proteína no es degradada o es 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). Comida de peces experimental fue elaborada con 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 detectable en las muestras con un límite 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% pura proteína, también fue evaluada por su toxicidad oral agudo (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 LD₅₀ de la proteína PAT en 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.

No existen características patológicas o perjudiciales para la salud humana o animal relacionadas con el gen *cp4 epsps* del evento MON-00603-6.

Evento MON-00603-6

El gen CP4 EPSPS codifica un polipéptido único de 455 aminoácidos (47,6 kDa), que exhibe alrededor de 50% de similitud con la secuencia de aminoácidos de la planta análoga enzima EPSPS. La familia de bacterias y proteínas EPSPS planta no se conocen para mostrar las propiedades tóxicas o alergénicas. La toxicidad potencial de la proteína CP4 EPSPS fue evaluada mediante la comparación de su secuencia de aminoácidos contra una base de datos de 4.677 secuencias de proteínas (no todas las únicas) que han sido asociados con la toxicidad, y en un estudio de toxicidad oral aguda en ratones. La proteína CP4 EPSPS no presenta una homología de secuencia con proteínas conocidas toxinas y no dar lugar a efectos adversos en animales de experimentación (50 machos, 50 hembras) que recibieron dosis de hasta 400 mg / kg de proteína CP4 bacterias derivadas EPSPS. La sustitución de un solo aminoácido en la proteína CP4 EPSPS L214P no modificó los resultados de la comparación de secuencias.

No se conocen propiedades tóxicas o alergénicas en la familia de bacterias y plantas con proteínas EPSPS. El potencial de toxicidad de la proteína CP4 EPSPS se analizó por comparación de la secuencia de aminoácidos contra una base de datos con 4,677 secuencias de proteínas (no todos únicos) que han sido asociadas con toxicidad y en un estudio de toxicidad oral aguda en ratones. La proteína CP4 EPSPS no mostró homología con ninguna secuencia de proteínas tóxicas conocidas y no tuvo efectos adversos en los animales probados (50 hembras y 50 machos) recibiendo dosis de 400 mg/Kg de proteína de prueba.

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

EVENTO DAS-01507-1

Ver inciso (j)

Mediante análisis Southern blot se probó la estabilidad de los genes *cry1F* y *pat* hasta la generación BC4 [Ver Figuras 4 y 6 del inciso i) del apartado I]

En la opinión del INE (oficio no. 00215) en el Dictamen Vinculante de la DGIRA-SEMARNAT (S.G.P.A./DGIRA/DG/6177/09) de la Solicitud 0010/2009, se menciona lo siguiente:

...De acuerdo a los estudios de Southern blot el evento DAS-01507-1 demostró estabilidad genética en dos generaciones, así mismo contiene una sola copia funcional del gen pat presente en el cassette de expresión integrado en el ADN genómico, y el gen cry1F presenta dos copias que se mantienen estables...

Herencia Mendeliana

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 10). La línea original transformada Hi-II conteniendo el evento TC 1507 fue cruzada con la línea homocigota elite para producir la semilla F1. La semilla F1 fue retrocruzada a la línea homocigota dos veces más para producir la semilla BC2F1. La aplicación del herbicida glufosinato en cada generación ayudo a eliminar las plantas susceptibles y obtener semilla homocigota.

La semilla de la generación BC2F1 fue sembrada, y se le aplico glufosinato. La segregación esperada fue de 1:1 (resistente: susceptible) para tolerancia a glufosinato.

Se describe la segregación en generaciones subsecuentes: después de tres retrocruzas semilla de la línea *Bt Cry1F 1507* (BC3F1) fue sembrada y polinizada. La semilla resultante (BC3F2) contuvo 3 partes resistentes y una parte susceptible. Esta semilla fue sembrada y asperjada con glufosinato para remover las plantas homocigotas susceptibles. Las plantas remanentes (una parte homocigota resistente y dos partes heterocigotas 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 4.

Después de que los híbridos fueron asperjados con glufosinato y 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 DAS-01507-1 es una inserción estable y es heredada en forma Mendeliana como un gen dominante. Análisis Southern indicaron que el gen parcial *cry1F* esta presente en plantas de la retrocruza BC4 y esto apoya la conclusión que dicho gen esta ligado a copias completas de los genes *cry1F* 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 *cry1F* están presentes en las plantas utilizadas en la prueba.

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) 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* δ -endotoxin expressed in transgenic *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. *Plant Physiology* 85:1103-1109.

Información Confidencial.

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. **Información Confidencial.**

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* (Proteína 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 years 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](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* CryIA(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 (décadas de pruebas de seguridad del pesticida microbiano Bt ha demostrado la ausencia de toxicidad para humanos y animales, y la ausencia de efectos adversos sobre organismos que no son blanco y sobre el ambiente).
- 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. Teosinte crossing barrier1, a locus governing hybridization of teosinte with maize. *Theor. Appl. Genet.* 103: 259-265.
- Fischhoff, D., Bowditch, 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.
- FDA (Food and Drug Administration). 1992. U. S. Food and Drug Administration. Statement of policy: foods derived from new plant varieties. Fed. Reg. (USA) 57:22984-23005.
- 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 fosfotricina 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-endoproteín: Acute Oral Toxicity Study in Mice* (Delta-endoproteína 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 teosinte 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>

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

La liberación se pretende realizar en campos de agricultores cooperantes bajo la supervisión de investigadores internos (Pioneer) así como de investigadores reconocidos de instituciones públicas y se seguirá el protocolo de experimentación que se presentan en el **Anexo IX**.

a) Superficie total del polígono o polígonos donde se realizará la liberación.

Los lugares donde se realizará la liberación del maíz GM DAS-1507-1xMON-00603-6 para la evaluación de la Equivalencia Agronómica y Efectividad Biológica se encuentran en los municipios de Angostura, Batauto, Guasave, Los Mochis y Navolato dentro de 5 polígonos de 100 Ha para cada localidad (experimento) en el estado de Sinaloa.

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

Características Agro-climáticas y Agro-ecológicas:

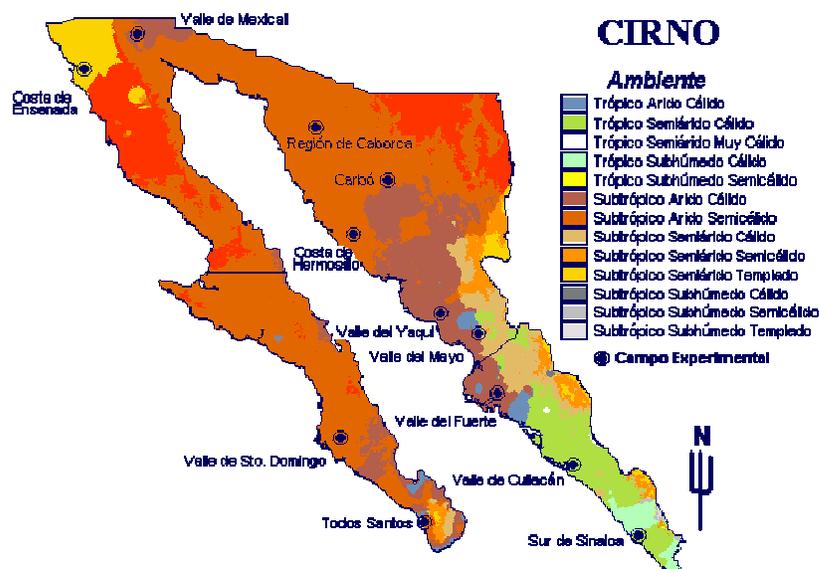
Clima: Subtrópico Árido Cálido

Temperatura Media Anual: 31.0° C

Temperatura Máxima Media Anual: 39.4° C

Temperatura Mínima Media Anual: 20.2° C

Precipitación Media Anual: 277 MM



II) 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:

Literalmente miles de alimentos y productos industriales son derivados del maíz. El maíz o sus derivados no contienen riesgo alguno a humanos, animales domesticados o especies silvestres. El maíz es una de las fuentes alimenticias más importantes en todo el mundo.

La fuente del gen *cry1F* es *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), un grupo diverso de bacterias Gram positiva formadoras de esporas. Como se describe en el análisis de seguridad, las proteínas *Bt* han sido utilizadas por algunos años en la agricultura para el control de insectos. Las proteínas *Bt* han demostrado ser específicas para el control de ciertas especies de lepidópteros, pero no tóxicas a humanos o animales. Estudios recientes han demostrado que tres serotipos de *Bt* son patógenos oportunistas en ratones después de haber sido expuestos a inhalación (Hernandez, *et al.*, 1999). Sin embargo mutantes de estos serotipos que no produjeron la proteína cristalina fueron también patogénicos, lo cual confirma que la proteína cristalina CRY1F no fue funcionalmente ligada a la patogenicidad de estos serotipos.

Las especies de *Bacillus thuringiensis* no tienen antecedente de causar alergias. En los casi 30 años de su uso comercial, no se han presentado reportes de alergenicidad a *Bt*, incluyendo alergenicidad ocupacional asociada con la elaboración de productos conteniendo *Bt* (EPA, 1995). Las formulaciones microbianas a base de *Bt* han sido utilizadas en un gran número de cultivos que incluyen, vegetales frescos, y hasta el momento no ha habido reportes de alergenicidad. Esta establece que la proteína CRY1F 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 patógena a humanos. Más aún, a esta bacteria no se le conoce como un alérgico (Van Wert, 1994).

El evento de Maíz GM es sustancialmente equivalente al maíz tradicional excepto por la característica introducida.

a) 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.

Estudios de la biología y morfología de las plantas complementan extensivos datos agronómicos y confirman la similitud de maíz 1507 a su homólogo no transgénico.

En las pruebas de campo durante varias temporadas y en diferentes lugares (USA en 1999, Francia, Italia y Bulgaria en 2000, España en 2002) se han recopilado gran cantidad de datos agronómicos y confirmado con estos la similitud fenotípica del maíz 1507 a su homólogo no transgénico, los datos agronómicos que se han evaluado son los siguientes: la germinación soportados con cuentas, puntuaciones visuales de desarrollo, unidades de calor acumulados al polen y estigmas, tallo y asentamiento de la raíz, altura de planta, altura de la mazorca, la población final, fecha/hora de la senescencia foliar, la incidencia de enfermedades, daños por insectos, la humedad y la densidad de grano (EFSA, 2005).

En estos estudios se encontraron ligeras diferencias en el acumulado de unidades de calor al polen y estigmas bajo infestación, se reportaron los resultados y se consideran indicativos de las pequeñas diferencias en los antecedentes genéticos de los híbridos GM y los no GM. No se observaron diferencias en el aspecto general de las plantas u otras diferencias fenotípicas que indiquen efectos inesperados pleiotrópicos de la modificación genética (EFSA, 2005).

Los posibles efectos no deseados sobre la adecuación de las plantas debido a la modificación genética

Los eventos con tolerancia a herbicida solo pueden ser considerados como proveedores de una ventaja selectiva para las plantas de maíz GM donde y cuando se aplican los herbicidas glufosinato de amonio y/o glifosato.

Igualmente, la resistencia a insectos plaga para ciertos lepidópteros y coleópteros provee una potencial ventaja en cultivo bajo condiciones de infestación. Sin embargo la supervivencia del maíz fuera de cultivo en Europa es significativamente limitada por una combinación de baja competitividad, ausencia de la fase de dormancia, susceptibilidad a enfermedades y condiciones de clima frío. Ya que esas características generales de éste maíz GM han permanecido cambiado, los eventos insertados, nombrados resistencia a insectos y tolerancia a herbicidas, no aparentan proveer una ventaja selectiva fuera de cultivos en Europa. Por lo que se considera improbable que individuos de este maíz GM o su progenie pueda diferir de las variedades de maíz convencionales en su habilidad para sobrevivir en subsecuentes temporadas o establecer poblaciones silvestres bajo condiciones ambientales europeas.

Potencial de transferencia de genes.

Un prerrequisito para cualquier transferencia de genes es la disponibilidad de vías de transferencia de material genético, ya sea a través de transferencia horizontal de DNA, o flujo genético vía vertical dispersión de semilla y polinización cruzada.

a) Transferencia genética de planta a bacterias

Datos científicos actuales (ver EFSA, 2004b; EFSA, 2007a para mas detalles) sugieren que la transferencia de genes de plantas GM a microorganismos bajo condiciones naturales es extremadamente raro, y se establece que podría ocurrir primordialmente a través de recombinación homóloga en microorganismos.

En el caso de liberación accidental y establecimiento de maíz 1507 en el ambiente, exponiendo a microorganismos a DNA transgénico derivado de plantas de maíz GM podría darse lugar durante la decadencia natural del material y/o polen de la planta GM en el suelo de áreas donde plantas GM pudieran establecerse.

Los productos alimenticios derivados de maíz GM podrían contener DNA transgénico. Por lo que los microorganismos en el tracto digestivo de humanos y animales pudieran estar expuestos a DNA transgénico.

b) Transferencia genética de planta a planta

La extensión de polinización cruzada a otras variedades de maíz dependerá principalmente de la escala de liberación accidental durante la transportación y el procesamiento. Para el caso del maíz, cualquier transferencia genética vertical es limitada hacia otras plantas *Zea mays* como poblaciones silvestres sexualmente compatibles, no se conoce en Europa (OECD2002).

La floración ocasional de plantas GM originadas por la liberación accidental que ocurre durante la transportación y procesamiento es improbable que se disperse en cantidades significativas de polen de maíz GM hacia otras plantas de maíz.

En conclusión, ya que el maíz 1507 no ha alterado su supervivencia, multiplicación o características de supervivencia, excepto cuando es cultivado en presencia de glufosinato de amonio o glifosato y/u organismos blanco, el Panel GMO emite la opinión científica de que la probabilidad de efectos no deseados al ambiente como consecuencia de la liberación de genes de este maíz no difiere del maíz 1507, NK603 o variedades de maíz convencional.

Potenciales interacciones de las plantas GM con los organismos no blanco

El Panel GMO evalúa si las proteínas Cry pudieran potencialmente afectar a organismos no blanco por la introducción al ambiente en estiércol y heces de los tractos digestivos principalmente de animales alimentados con maíz GM. Los datos aportados por el solicitante (Herman *et al.*, 2003) y la literatura sobre otras proteínas Cry sugieren que la mayoría de las proteínas Cry (Ahmad *et al.*, 2005; Lutz *et al.*, 2005) se degradan por la actividad

enzimática en el tracto digestivo por lo que solo una baja cantidad de proteínas Cry pueden permanecer intactas en las heces.

Ver **Anexo III**. Opinion of the scientific Panel on Genetically Modified Organisms. EFSA.

Ver **Anexo IV**. Environmental Assessment of BT Cry Proteins

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.

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

La línea de maíz DAS-01507-1, resistente a ciertas especies de insectos lepidópteros, produce pequeñas cantidades de la proteína Cry1F. La proteína producida por el gen *cry1F* ha demostrado ser efectiva en el control de ciertas especies de gusanos lepidópteros en el estado larvario de crecimiento. A pesar de que los marcadores selectivos fueron introducidos a las células con el propósito de selección, las plantas regeneradas expresan tolerancia al glufosinato de amonio en comparación con plantas no transformadas.

La línea TC1507 ha sido sembrada en el campo desde 1997 en zonas maiceras de los Estados Unidos, Puerto Rico, Hawaii, Colombia y Honduras. Los mejoradores de maíz han realizado ensayos de campo para monitorear resistencia a enfermedades manchas foliares o tizones (*Helminthosporium turcicum* y *Helminthosporium maydis*), roya del sur (*Puccinia polysora*), bacteria (*Erwinia stewartii*), y carbones (*Sphaceloteca reiliana* y *Ustilago maydis*) e insectos plaga (gusano elotero, gusano cogollero, chicharritas, afidos, araña roja, gusano barrenador) de la línea TC1507 y líneas no modificadas de maíces. No se observaron diferencias en resistencia a enfermedades y plagas (que no fueran los otorgados por el gen *cry1F*) entre las plantas de maíz DAS-01507-1 y el maíz sin el gen.

Ensayos de campo de la línea DAS-01507-1 conteniendo el gen *cry1F* con sus respectivos controles, fueron establecidos en regiones claves para la producción de maíz en los Estados Unidos durante 1999. En la tabla 9 se presenta un resumen de las observaciones de los ensayos. La expresión de la proteína Cry1F en líneas de maíz inhibió la alimentación del gusano barrenador del maíz, otras especies de lepidópteros y protegió a las plantas de pérdidas de rendimiento por causa de los insectos. Estos resultados demuestran que no existen diferencias agronómicas entre líneas de maíz con el gen *cry1F* y líneas de maíz no modificadas, con excepción de la capacidad de las líneas de maíz con el gen *cry1F* de controlar ciertas especies de insectos lepidópteros.

Tabla 4. Equivalencia Agronómica de la línea *Bt Cry1F* de maíz 1507.

Característica	Maíz Híbrido línea 1507	Híbrido Isogénico	Número de localidades	Número de reps	LSD ¹
Rendimiento (bushels per acre)	183.4	178.0	15	41	7.5
Húmedad (%)	18.8	18.6	15	41	0.07
Unidades calor acumuladas para alcanzar 50% de espigamiento (producción de polen)	1351	1353	4	12	18.4
Unidades calor acumuladas para alcanzar 50% de floración femenina (presencia de estigmas)	1343	1337	4	12	18.9
Densidad del grano ²	58.3	58.2	9	27	0.7
Altura de planta (pulgadas)	99.3	98.4	9	19	2.7
Altura de la mazorca (pulgadas)	45.5	44.3	9	19	2.3
Establecimiento de las plantas en campo (promedio de plantas establecidas por parcela)	74.5	71.7	4	12	26.5
Calificación visual del vigor de lo planta desde la espiga a la primera hoja ³	6.1	6.0	4	12	0.6
Calificación visual del vigor de lo planta en estado vegetativo cuando la planta tenía de tres a cinco hojas ³	6.1	6.3	4	12	0.6
Acame de tallo ⁴	0.3	0.6	11	33	0.8
Acame de raíz ⁴	1.1	1.5	10	30	1.4
Mazorcas caídas por parcela	0.0	0.0	10	30	0.1
Integridad de la parte área de la planta. ⁵	7.9	7.6	9	27	1.1

¹ Diferencia mínima significativa (LSD) al nivel estadístico del 0.05 %.

² Peso (en libra) de un bushel de grano con una humedad del 15.5%.

³ Usando una escala visual de 1-9, donde 9 es el más bajo rango.

⁴ Promedio de número de plantas por parcela que mostraron acame de tallo o de raíz, respectivamente.

⁵ Usando una escala visual de 1-9 que describe que también los tallos se mantuvieron intactos arriba de la mazorca, donde 9 es el mejor.

Ver Anexo I

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.

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

Los resultados hasta ahora observados en experimentos establecidos en otros países no han demostrado efectos no esperados en el desarrollo del maíz GM. Las siembras experimentales en México pretenden entre sus diversos objetivos obtener información que proporcione a las Agencias Reguladoras indicativos para la toma de sus decisiones en correlación a los posibles efectos no esperados, así como su evaluación, estimación, manejo y prevención.

Ver inciso d) del apartado III

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.

Los métodos de detección para los eventos DAS-1507-1 y MON-00603-6, han sido validados por el Laboratorio de Referencia de la Comunidad Europea (CRL) y se puede encontrar los detalles en el **Anexo V**.

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

Ver inciso c) apartado I

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 17). 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 (Kieselbach, 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>).

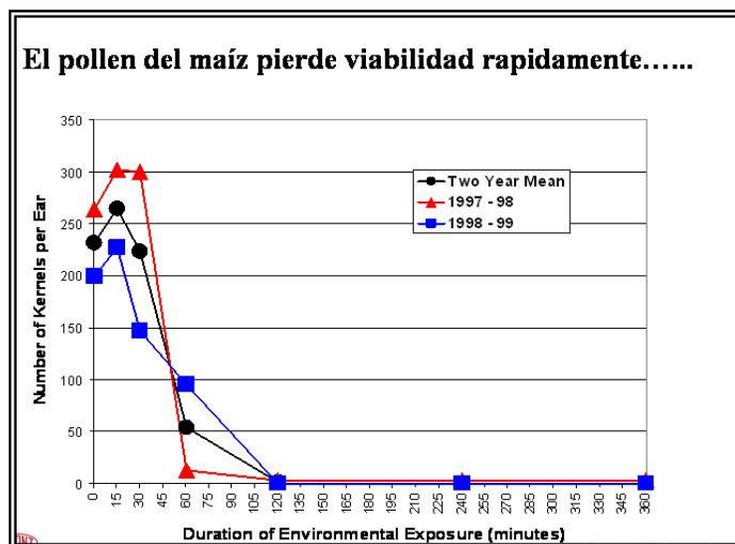


Figura 2. El maíz pierde viabilidad rápidamente.

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 distances for transgenic maize cultivation. *Transgenic Res.* 17:317-335.

III) 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.2 Plan de monitoreo detallado

Ver punto IV.a.3.

IV.a.3 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

Ver punto IV.a.3.

IV.a.4 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

Con el fin de que las autoridades correspondientes a la Verificación e Inspección puedan monitorear el movimiento de semilla y el establecimiento de los experimentos, se informará con anticipación la fecha de las siguientes actividades a realizar en el manejo de los experimentos:

- Fecha de importación de la semilla.
- Fecha estimada y real de siembra.
- Fecha de la realización de las principales prácticas culturales en el manejo del cultivo.
- Fecha estimada y real de cosecha.
- Fecha de exportación del producto cosechado.

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra (**Anexo XI**).

Los Puntos Críticos de Control hasta ahora identificados dentro del plan de monitoreo son los siguientes:

1. Controlar el movimiento del material vegetal desde y hacia el sitio del ensayo (transporte y limpieza de cualquier maquinaria utilizada)
2. Controlar el almacenamiento de semillas y otro material vegetal;
3. Controlar la disposición del material vegetal residual o en exceso en el sitio de ensayo – puede tratarse del exceso de material de siembra, material remanente después de la cosecha y material de las actividades de limpieza, emasculación o desfloración;
4. Controlar la disposición de cualquier material retenido después de la cosecha, como es el caso de las semillas que se reservan para análisis subsiguientes;
5. Controlar la cosecha indebida en el lugar del ensayo; y
6. Realizar un programa de monitoreo para verificar que no se presente dispersión del OGM.

Al igual que en programas de calidad para otras cuestiones se requiere la implementación de procesos de control y documentación efectivos con el respaldo de procedimientos de inspección y verificación.

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.

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

El personal debe conocer sus responsabilidades para garantizar que el material sea manipulado, empacado, etiquetado y almacenado de manera adecuada; que se lleven registros apropiados; y que en el caso de una liberación accidental se sepa qué acciones tomar y por parte de quién. Las copias de los procedimientos operativos normalizados deben encontrarse en forma accesible para todo el personal autorizado.

Las áreas de almacenaje serán etiquetadas mencionando que contienen material vegetal experimental genéticamente modificado. Las etiquetas deben adherirse a los contenedores en el lugar de entrada, recomendándose que el acceso a los depósitos se restrinja sólo al personal autorizado.

El aislamiento en campo puede incluir alguna de las siguientes opciones:

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 entre 300 y 500 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 cualquier 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.

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.

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.

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 diseminación o dispersión no intencional de la semilla en sitios no permitidos para la liberación, se notificará inmediatamente a las autoridades de SENASICA-SAGARPA. Se delimitará y señalizará el área en donde ocurrió la liberación no intencional y ésta será controlada de acuerdo con las recomendaciones propias de la empresa, de SENASICA-SAGARPA y de la PROFEPA - INE - SEMARNAT.

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.

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

Los polígonos y/o localidades aquí descritas para su evaluación y experimentación se sembrarán utilizando como medida de bioseguridad el aislamiento a una distancia de 300 metros con respecto a cualquier otro maíz en base a las recomendaciones establecidas por:

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).

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.

Para mayor detalle de las medidas a tomar para el aislamiento de la zona liberar experimentalmente al OGM revisar **Anexo XI** referente al Manual de Buenas Prácticas de Siembra y el **Anexo IX** referente a los protocolos de evaluación agronómica y de eficacia biológica.

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,

Ver inciso (f) apartado III

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

Disposición final del OGM.

La semilla GM producida de estos experimentos y la semilla remanente que resulte de la limpieza o acondicionamiento se destruirá por incineración. No se permitirá que ninguna semilla entre en la cadena alimenticia o se use como alimento para animales. Los residuos de rastrojo se incorporarán al suelo. Los terrenos donde se siembre el experimento se monitoreara para detectar la presencia de plantas voluntarias y de encontrarse se destruirán por medios mecánicos o químicos.

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, la 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 recomendará que el material sea eliminado en el mismo lugar en que se realiza el ensayo para limitar la posibilidad de una liberación accidental.

IV) 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 DAS-01507-1 se ha utilizado en numerosos ensayos de campo en los Estados Unidos desde finales de 1996. El Servicio de Salud Animal y Vegetal (APHIS, por sus siglas en inglés) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, aprobó todos los ensayos, los cuales cumplen con los estándares de rendimiento esbozados en 7 CFR 340.3(a). Asimismo las agencias regulatorias del medio ambiente (EPA) y salud (FDA) han aprobado la comercialización de híbridos de maíz con dicho evento en los Estados Unidos. Por otro lado, la Secretaria de Salud en México ha notificado que la proteína CRY1F no representa ningún daño para la salud humana o animal. En la Tabla 8 se encuentran los países que han aprobado el evento acumulado DAS-01507-1 x MON-00603-6.

b) Efectos de la liberación sobre la flora y fauna

No se tienen antecedentes de efectos en la flora y fauna en los países donde se ha llevado a cabo la liberación del OGM.

Ver apartado II

- 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.**

La línea DAS-01507-1 ha sido sembrada en el campo desde 1997 en zonas maiceras de los Estados Unidos, Puerto Rico, Hawai, Colombia y Honduras. Ensayos de campo de la línea 1507 conteniendo el gen cry1F con sus respectivos controles, fueron establecidos en regiones clave para la producción de maíz en los Estados Unidos durante 1999. Y ha sido comercializado por varios años desde entonces sin haber presentado ningún problema hasta la fecha.

La *EFSA Journal* (2006) 355, 1-23 (**Ver Anexo III**) considera que el maíz 1507 x NK603 es tan seguro como su contraparte convencional, por consiguiente concluye que en el contexto de su uso es improbable que este maíz tenga algún efecto adverso en humanos, salud animal y medio ambiente.

Ver **Anexo XI**: Manual de Buenas Prácticas de Siembra.

- d) Otros estudios o consideraciones en los que se analicen 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).

El evento 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 zea*). Además, ofrece resistencia al herbicida glufosinato de amonio, proporcionada por la tecnología Liberty Link® para control de malezas en post-emergencia.

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.

El gen pat, que codifica para la enzima fosfinotricina acetiltransferasa (PAT), se deriva de la bacteria no patógena *Streptomyces viridochromogenes*. La inclusión del gen pat permite la selección vegetal de las líneas de maíz B.t. y proporciona tolerancia a los herbicidas a base de glufosinato de amonio. La proteína PAT no confiere actividad plaguicida; sin embargo, proporciona a los agricultores un medio para el manejo alternativo de las malas hierbas. El glufosinato de amonio tiene un historial de uso seguro como herbicida en el maíz de los EE.UU. y no se conoce de efectos adversos ambientales o toxicológicos.

La línea de maíz 1507xNK603 ofrece al productor una herramienta simple, altamente efectiva y benigna desde el punto de vista ambiental, para controlar las plagas que lo afectan y para facilitar y mejorar el manejo del cultivo.

[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.](#)

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 línea de maíz con eventos acumulados DAS-01507-1xMON-00603-6 fue originada en Estados Unidos. La legislación de ese país en materia de regulación de Organismos Genéticamente Modificados no expide autorizaciones de eventos acumulados (eventos en stack), la desregulación de estos se basa en las previas autorizaciones de los eventos individuales que los componen.

Ver **Anexo VII** las aprobaciones FDA de liberación experimental.

V) 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

La línea de maíz con el evento DAS-01507-1, resistente a ciertas especies de insectos lepidópteros, produce pequeñas cantidades de la proteína Cry1F. La proteína producida por el gen cry1F ha demostrado ser efectiva en el control de ciertas especies de gusanos lepidópteros en el estado larvario de crecimiento. A pesar de que los marcadores selectivos fueron introducidos a las células con el propósito de selección, las plantas regeneradas expresan tolerancia al glufosinato de amonio en comparación con plantas no transformadas.

La línea DAS-01507-1 ha sido sembrada en el campo desde 1997 en zonas maiceras de los Estados Unidos, Puerto Rico, Hawai, Colombia y Honduras. Los mejoradores de maíz han realizado ensayos de campo para monitorear resistencia a enfermedades manchas foliares o tizones (*Helminthosporium turcicum* y *Helminthosporium maydis*), roya del sur (*Puccinia polysora*), bacteria (*Erwinia stewartii*), y carbones (*Sphaceloteca reiliana* y *Ustilago maydis*) y insectos plaga (gusano elotero, gusano cogollero, chicharritas, afidos, araña roja, gusano barrenador) de la línea TC1507 y líneas no modificadas de maíces. No se observaron diferencias en resistencia a enfermedades y plagas (que no fueran los otorgados por el gen *cry1F*) entre las plantas de maíz DAS-01507-1 y el maíz sin el gen.

Con referencia a las alternativas tecnológicas del evento genéticamente modificado DAS-01507xMON-00603-6 para el control de insectos lepidópteros incluyen el manejo de insecticidas contando principalmente de 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 organofosforados, 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 a un 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 insecticidas 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, permctrina, resmetrina, tetrametrina, etc. son algunos de los piretroides que han salido al mercado.

Alternativas Tecnológicas para Contender con la Tolerancia al Herbicida Glufosinato.

La alternativa tecnológica para contender con la tolerancia al herbicida con el ingrediente activo glifosato que provee el evento MON-00603-6 del evento apilado DAS-01507-1xMON-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 (12gr/lit 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).

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

No aplica ya que el OGM actualmente no tiene finalidades de salud pública ni tampoco se destinará a la biorremediación, se encuentra en etapa de liberación experimental al ambiente.

Sin embargo se cuenta con el número de autorización expedida por la Secretaría de Salud del maíz con el evento apilado DAS-01507-1xMON-00603-6 es: COFEPRIS/CEMAR/04430322193/04.

Ver Autorización en **Anexo VI**.

VII) LA 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 la semilla así como los requisitos regulatorios en conjunto suman ese periodo.