



**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 los Eventos Apilados

DAS-59122-7 x 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 Coleópteros, Algunos Insectos Lepidópteros y con  
Tolerancia al Herbicida que Contiene el Ingrediente Activo Glifosato.

Junio del 2010

---

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

Dow AgroSciences de México SA de CV  
Ave. Vallarta 6503, Pisos 7 y 8  
Torre Corey-Concentro  
Guadalajara, Jal  
C.P. 45010 Tel. (33) 3678-2400

## I) CARACTERIZACIÓN DEL OGM

### a) Identificador único del evento de transformación.

**Nombre científico:** *Zea mays* L.

**Nombre común:** Maíz.

**Nombre Comercial:** Herculex XTRA x RR2

**Identificador Único de la OCDE:** DAS-59122-7 x DAS-Ø15Ø7-1 x MON-00603-6

El evento DAS-59122-7 X TC1507 x NK603 (identificador OCDE: DAS-59122-7 X DAS-Ø15Ø7-1 x MON-00603-6) es un híbrido Pioneer™ resultante del cruce convencional de las líneas de maíz con resistencia a coleópteros DAS-59122-7, la línea resistente a lepidópteros DAS-Ø15Ø7-1 y la línea tolerante al herbicida Glifosato MON-ØØ6Ø3-6.

### 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 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 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.

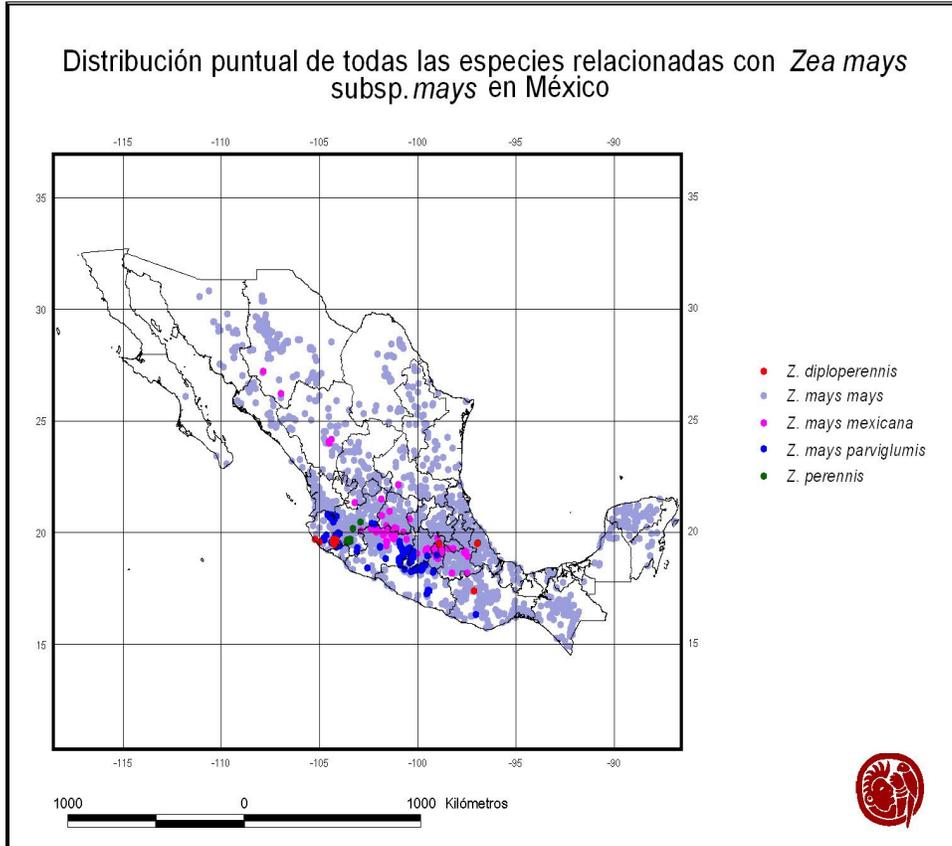
**Tabla 1.** Lista de especies emparentadas con el maíz.

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 <sup>2</sup> en el fondo del valle.	A lo largo de los márgenes de las milpas y en los bosquecillos de sauces que bordean las corrientes de agua.
Durango ●	maicillo.	Valle de Guadiana, a 10 km de Durango, en el estado de Durango.	No más de 20 km <sup>2</sup> .	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 <sup>2</sup>	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 <sup>2</sup> alrededor de Chalco. La semilla ha viajado a Toluca y Puebla en el estiércol del ganado lechero.	Se le encuentra casi exclusivamente en las milpas como una "imitación" del maíz, pero también como maleza a lo largo de los caminos.
Balsas ▲	maíz de huiscatote (correcaminos).  maíz de pájaro, atzintzintle.	Los cerros que rodean la cuenca del río Balsas. La población está distribuida en forma discontinua, con una parte situada al sur de Chilpancingo, en el estado de Guerrero, y la otra en el borde septentrional de la cuenca, extendiéndose en Michoacán y la costa de Jalisco.	La población al sur de Chilpancingo abarca cientos de kilómetros cuadrados, mientras que la otra se extiende por miles de kilómetros cuadrados en los estados de Guerrero, Michoacán y México.	A veces se le observa en las milpas, pero en general se le encuentra en las densas laderas, especialmente a lo largo de las barrancas u otras áreas donde hay escurrimiento de la lluvia. Coloniza con éxito las milpas en barbecho. Los alambrados de púas y el ganado están cambiando este hábitat.
Oaxaca ●	Cocoxie (correcaminos)	San Francisco de Honduras, a 5 km de San Pedro Juchatengo, en la Sierra Madre del sur de Oaxaca.	No más de 20 km <sup>2</sup> , 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 <sup>2</sup> .	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 <sup>2</sup> , pero ahora la distribución es fragmentada y la población más grande abarca cuanto más 1 km <sup>2</sup> .	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](http://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 cruas es generalmente estéril.

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

La evidencia molecular reciente ha confirmado que existe cierto flujo genético limitado entre el maíz y el teocintle lo cual puede ocurrir en cualquier dirección, pero que se presenta a una frecuencia muy baja (Doebley 1990). Incluso si el polen genéticamente modificado fuese a fertilizar el teocintle para formar un híbrido viable, cualquier gen del maíz deberá conferir una ventaja selectiva muy fuerte sobre los teocintles silvestres a fin de continuar en la población de teocintle. La resistencia a las plagas de lepidópteros, tales como el barrenador del tallo, es poco

probable que confiera esa ventaja selectiva tan fuerte, especialmente debido a que la resistencia a los insectos herbívoros es común entre las especies silvestres. Además, los fitomejoradores han hecho adelantos importantes en el desarrollo de híbridos de maíz comerciales con mayor resistencia a los insectos (Dicke y Guthrie 1988). Estos híbridos han estado ampliamente disponibles en América del Norte pero no ha habido un incremento perceptible en la conveniencia del teocintle.

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

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

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

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

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

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

Familia: Poaceae  
Subfamilia: Panicoideae  
Tribu: Maydeae  
Genero: *Zea*  
Especie: *mays*

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).

El maíz (*Zea mays* L.) es una especie monocotiledónea anual que pertenece al genero *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 *Información Confidencial*

**Nombres científicos:**

- a) *Zea mays* L.
- b) *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* cepa PS81I (NRRL B-18484)
- c) *Bacillus thuringiensis* cepa PS149B1
- d) *Agrobacterium tumefaciens*
- e) Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV)
- f) *Streptomyces viridochromogenes*
- g) *Oryza sativa*
- h) *Arabidopsis thaliana*
- i) *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4

**Nombres comunes:**

- a) Maíz
- b) *Bacillus thuringiensis* var. *Aizawai* cepa PS81I (NRRL B-18484)
- c) *Bacillus thuringiensis* cepa PS149B1
- d) *Agrobacterium tumefaciens*
- e) Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV)
- f) *Streptomyces viridochromogenes*
- g) Arroz
- h) *Arabidopsis thaliana*
- i) *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4

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

La línea de maíz apilada 59122 × 1507 × NK603 fue desarrollada por Pioneer Hi-Bred International, Inc (USA). Las líneas parentales de los eventos DAS-59122-7 y 1507 fueron desarrolladas conjuntamente por Dow AgroSciences LLC (USA) y Pioneer Hi-Bred International, Inc (USA); la línea parental del evento NK603 fue desarrollado por Monsanto Company (USA). La línea apilada 59122 × 1507 × NK603 es un híbrido creado a través de cruzamiento tradicional de las líneas puras DAS-59122-7 × 1507 y NK603.

Pioneer Hi-Bred International, Inc.  
7100 NW 62<sup>nd</sup> 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 .
- Baltazar M.B.**, Sánchez-González, J.J., De la Cruz-Larios, L. and Schoper, J. 2005. Pollination between maize and teosinte: an important determinant of gene flow in México. Theor Appl Genet. 110:519-526.
- CFIA.** 1994. Regulatory Directive Dir 94-11: The Biology of *Zea mays* L. (Corn/Maize) (Biología del *Zea mays* L. Canadian Food Inspection Ag., Plant Products Div., Plant Biotechnology Office, Ottawa.
- Cornell University** 1996. Bacteria. In: Biological control: A guide to natural enemies in North America. Weeden, Shelton and Hoffmann (eds). Cornell University, Ithaca, NY (<http://www.nysaes.cornell.edu/Ent/Biocontrol/Pathogens/Bacteria.html>).
- Doebley, J.** 1990. Molecular evidence of gene flow among *Zea* species. BioScience 40:443-448.
- Doebley, J.** 2004. The genetics of maize evolution. Annu Rev Gen. 2004;38:37-59.
- OECD.** 1999. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11.
- Eckardt, N.A.** 2003. Maize genetics 2003. Meeting Report. The Plant Cell Rep. 15 (5) 1053-1055.
- Evans, M.M.S.** and Kermicle, J.L. 2001. Teosinte crossing barrier1, a locus governing hybridization of teosinte with maize. Theor Appl Genet 103:259-265.
- OECD.** 1999. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11.
- Merritt, C.R.** 1998. The commercialization of transgenic crops – the Bt experience. In: Biotechnology in crop protection: Facts and fallacies. 1998 BCPC Symposium Proceedings, 71, pp. 79-86.
- Wilkes, H.G.** 1977. Hybridization of maize and teosinte in Mexico and Guatemala and the improvement of maize. Econ Bot 34:254-293.
- Weber A**, Clark RM, Vaughn L, Sánchez-Gonzalez Jde J, Yu J, Yandell BS, Bradbury P, Doebley J. 2007. Major regulatory genes in maize contribute to standing variation in teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis*). Genetics. 177(4):2349-59.  
(USDA, 1995; EPA, 1995a; EPA, 1995b; EPA, 1996a; EPA, 1997, EFSA 2003, Essner 2003).

**EVENTO MON-00603-6**

La información 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

## Tipo de herencia de los caracteres producto de los genes insertados

### **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 48). 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 mas para producir la semilla BC2F1. La aplicación del herbicida glufosinato en cada generación ayudo a eliminar las plantas susceptibles y obtener semilla homocigota.

Fue sembrada la semilla de la generación BC2F1, y se le aplico glufosinato. La segregación esperada fue de 1:1 (resistente: susceptible) para tolerancia a glufosinato. En la Tabla 10 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 10.

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.

### **HERENCIA MENDELIANA DE DAS-59122-7-1**

La segregación mendeliana de B.t. *Cry34/35Ab1* evento DAS-59122-7 de maíz, se registró y analizó, utilizando el análisis de chi-cuadrado, en ocho fases (Tabla 11, Figura 49). Ya que DAS-59122-7 se debe segregar como un solo gen dominante, se le aplicó a cada generación una pulverización con glufosinato de amonio para eliminar las plantas susceptibles al herbicida a fin de determinar si el evento segregaba como se esperaba.

Todas las plantas que se habían seleccionado en cada generación de mejoramiento se probaron con dispositivos de flujo lateral (DFL) del ensayo inmunológico de *Cry34Ab1*. Asimismo, se encontró que todas las plantas que se determinó que eran tolerantes al herbicida también eran positivas para *Cry34Ab1*. En cinco de las ocho generaciones, no se observaron desviaciones significativas con respecto a las razones de segregación esperadas (Tabla 11). Se presentó una desviación importante con respecto a la razón de segregación esperada en las generaciones BC1, BC4 y BC4S1 en sólo una de las dos líneas endocriadas en cada generación. Se hubiera anticipado un patrón más consistente de desviaciones de todas las generaciones y líneas endocriadas esperadas, si el evento fuera responsable de estas inconsistencias. La explicación más probable de estas desviaciones significativas en la generación BC1, es el tamaño más pequeño de la muestra. También podría ser una explicación, un error en el proceso de mejoramiento que permitió plantas extrasusceptibles en la generación BC4 y la generación BC4S1. La desviación en la generación BC4S1 se presentó en sólo una familia de líneas endocriadas y no

se observó en ninguna línea endocriada en la generación BC2S1. Debido a que la mayoría de las generaciones no mostraron desviaciones significativas con respecto a las razones esperadas, y las desviaciones que ocurrieron no fueron consistentes a través de las generaciones y endocrías, se concluyó que DAS-59122-7 se hereda como un gen dominante Mendeliano. Una prueba más eficaz con la prueba de chi-cuadrada a través de todas las generaciones con una razón esperada de 1:1 (2644:2750), también dio como resultado una desviación significativa de la razón esperada, al igual que sucedió con la prueba a través de todas las generaciones dentro de la razón esperada de 3:1 (1354:472).

#### Expresión de las proteínas

#### **EVENTO APILADO DAS-59122-7xDAS-01507-1xMON-00603-6**

El objetivo del estudio fue determinar las concentraciones de las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT y/o CP4 EPSPS en tejidos muestreados de maíz 1507, 59122, NK603 y 59122x1507xNK603, tratados y sin tratar.

La fase de campo de este estudio se llevó a cabo en tres sitios separados localizados en España. Cada sitio contuvo maíz 1507, 59122, NK603, 1507x59122, 59122xNK603 y 59122x1507xNK603. Se hizo aplicación de un herbicida conteniendo glifosato al maíz 59122x1507xNK603 seguida de una aplicación de glufosinato. Se colectaron muestras durante toda la temporada de desarrollo de hoja, raíz, polen, tallo, forraje, grano y planta entera para el análisis de concentración de proteínas. Se determinó la concentración de proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT y/o CP4 EPSPS usando métodos cuantitativos específicos ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

#### **Resultados y discusión**

Para la proteína Cry34Ab1, en todos los tipos de tejidos y localidades para el maíz 59122 tratado, los rangos de concentración fueron de 0<sup>1</sup> a 370 ng/mg de peso seco. Para la proteína Cry34Ab1, en todos los tipos de tejido para maíz 59122x1507xNK603 sin tratar y tratado, los rangos de concentración fueron de 2.0 a 280 y 0.22 a 350 ng/mg de peso seco, respectivamente.

Para la proteína Cry35Ab1, en todos los tipos de tejidos y localidades para el maíz 59122 tratado, los rangos de concentración fueron de 0<sup>1</sup> a 140 ng/mg de peso seco. Para la proteína Cry35Ab1, en todos los tipos de tejido para maíz 59122x1507xNK603 sin tratar y tratado, los rangos de concentración fueron de 0<sup>1</sup> a 150 y 0<sup>1</sup> a 160 ng/mg de peso seco, respectivamente.

Para la proteína Cry1F, en todos los tipos de tejidos y localidades para el maíz 1507 sin tratar y tratado, los rangos de concentración fueron de 0<sup>1</sup> a 47 y de 0<sup>1</sup> a 46 ng/mg de peso seco, respectivamente. Para la proteína Cry1F, en todos los tipos de tejido para maíz 59122x1507xNK603 sin tratar y tratado, los rangos de concentración fueron de 0<sup>1</sup> a 37 y 0<sup>1</sup> a 39 ng/mg de peso seco, respectivamente.

Para la proteína PAT, en todos los tipos de tejidos y localidades para el maíz 1507 sin tratar y tratado, los rangos de concentración fueron de 0<sup>1</sup> a 8.5 y de 0<sup>1</sup> a 10 ng/mg de peso seco, respectivamente. Para la proteína PAT, en todos los tipos de tejido para maíz 59122x1507xNK603 sin tratar y tratado, los rangos de concentración fueron de 0<sup>1</sup> a 31 y 0<sup>1</sup> a 36 ng/mg de peso seco, respectivamente.

Para la proteína CP4 EPSPS, en todos los tipos de tejidos y localidades para el maíz NK603 sin tratar y tratado, los rangos de concentración fueron de 0<sup>1</sup> a 480 y de 0<sup>1</sup> a 460 ng/mg de peso seco, respectivamente. Para la proteína CP4 EPSPS, en todos los tipos de tejido para maíz 59122x1507xNK603 sin tratar y tratado, los rangos de concentración fueron de 0<sup>1</sup> a 480 y 0<sup>1</sup> a 580 ng/mg de peso seco, respectivamente.

<sup>1</sup> Para valores por debajo del Límite Bajo de Cuantificación se asignó el valor cero para fines de cálculo.

## h) Patogenicidad o virulencia de los organismos donadores y receptores

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

La fuente del gen *cry1F* es *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), un grupo diverso de bacterias Gram positiva formadoras de esporas. 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 son 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 estuvo funcionalmente ligada a la patogenicidad de estos serotipos.

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 *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 patogénica a humanos. Más aún, a esta bacteria no se le conoce como un alérgeno (Van Wert, 1994).

Las secuencias genéticas obtenidas de los organismos donantes presentes en la línea de eventos acumulados DAS-59122-7 carecen de características patogénicas; asimismo, no existen características patogénicas o perjudiciales para la salud humana o animal relacionadas con los genes *cry34Ab1*, *cry35Ab1* y *pat* o con los elementos asociados utilizados para regular su expresión en la línea de eventos acumulados (USDA, 1995; EPA, 1995a; EPA, 1995b; EPA, 1996a; EPA, 1997, EFSA 2003, Essner 2003).

Elementos genéticos y regulatorios aislados de los organismos detallados a continuación, fueron utilizados en la generación del evento DAS-59122-7: *Zea mays* L., *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*, *Agrobacterium tumefaciens*, Virus del Mosaico de la Coliflor, *Agrobacterium* sp. y *Streptomyces viridochromogenes*.

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

*Streptomyces viridochromogenes* es una bacteria común del suelo (OECD, 1999) que posee un gen que codifica para el tripéptido L-fosfinotricil-L-alanil-alanina (L-PPT), un herbicida no selectivo. Esta bacteria posee también el gen *pat*, que confiere tolerancia al tripéptido mencionado; el gen *pat* se identificó, caracterizó y aisló de la misma.

El arroz (*Oryza sativa*) no es un organismo patogénico y su domesticación como cultivo agrícola, al igual que el maíz es de una larga historia (FAO, 2004).

*Arabidopsis thaliana* es una especie vegetal considerada como modelo en estudios de investigación de plantas (Meinke *et al.*, 1998), no es un organismo patogénico.

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

## **Evaluación de alergenicidad de las proteínas en el maíz 1507x59122xNK603.**

De acuerdo a la metodología para la evaluación de alergenicidad, lo que representa una variedad de factores y métodos experimentales para la evaluación global del potencial alergénico de las proteínas (Metcalf et al., 1996, FAO / OMS, 2001; del Codex, 2003), se evaluaron las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT y CP4 EPSPS por su potencial alergénico a través de: (i) evaluar el potencial alergénico de la fuente del gen, (ii) Las búsquedas de homología con alérgenos de proteína conocida, (iii) la susceptibilidad a la simulación de la digestión y termolabilidad *in vitro*, (iv) la evaluación de la glicosilación y (vi) evaluación de la exposición de la proteína. Los resultados obtenidos han confirmado que las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT y CP4 EPSPS no suponen ningún riesgo significativo de ser un alérgeno potencial.

En particular, el factor más importante a considerar en la evaluación de potencial alergénico es si la fuente del gen que se introduce en las plantas se sabe que es alergénica. Ni el *Bacillus thuringiensis* (la fuente de los genes cry34Ab1, cry35Ab1 y cry1F), *Streptomyces viridochromogenes* (la fuente del gen *pat*), ni de *Agrobacterium sp.* cepa CP4 (la fuente del gen CP4 EPSPS) tienen un historial de causar alergias. También las bacterias del suelo, los tres organismos donantes son comunes.

Además, el perfil bioquímico de las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT y CP4 EPSPS también proporciona una base para la evaluación de alérgenos en comparación con los alérgenos de proteínas conocidas. Estas proteínas no mostraron características de los alérgenos conocidos. No hay ninguna homología significativa entre las secuencias de aminoácidos de las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT y CP4 EPSPS a las proteínas alergénicas conocidas (Song, 2003; la EFSA, 2003a y 2003b; la EFSA, de 2004, la EFSA, 2005a y 2005b). Las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT y CP4 EPSPS se digieren rápidamente en el líquido de digestión simulada (Herman et al., 2003; OCDE, 1999a y 1999b; la EFSA, de 2004, la EFSA, 2005a y 2005b), que se expresan en niveles bajos en el grano de maíz 59122x1507xNK603 grano de, estas proteínas no se glicosilan, y son susceptibles al calentamiento (Herman, 2000b; OCDE, 1999a y 1999b; EFSA, 2004, la EFSA, 2005a y 2005b).

En conclusión, las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT y CP4 EPSPS expresadas en el maíz 1507x59122xNK603 no presentan las características asociadas con las proteínas alergénicas. Por lo tanto, el maíz 1507x59122xNK603 no plantea ningún riesgo alergénico significativo para los humanos y animales.

## **Evaluación de alergenicidad**

En general, el maíz ha sido clasificado como "el alimento común menos alergénico" por el Consejo Internacional de Biotecnología de Alimentos (Metcalf, 1997). Sin embargo, la evaluación a reacciones de alergenicidad a las proteínas de maíz es difícil debido a la falta de documentación de maíz inducida por alergia, así como su limitada documentación disponible de sueros de maíz a los que las personas son alérgicas. En los últimos cinco años, algunos datos que han sido publicados identifican alérgenos putativos en el maíz.

Pastorello et al. (2000) identificaron algunos componentes de unión IgE (IgE-binding) en la harina de maíz donde se encontró: una proteína 9 kDa, correspondiente a la transferencia de proteína de maíz de lípidos (LTP) y otro de 16 kDa, que corresponde a un inhibidor de la tripsina. La proteína de este último es un miembro de la tripsina de cereales y familia de inhibidores de la amilasa, que cuenta con un grupo altamente homólogo de las proteínas con pesos moleculares comprendidos entre 12 a 16 KD y son responsables de la llamada asma del panadero. Sin embargo, en este estudio, estos investigadores utilizaron sueros en individuos que presentan alergia al maíz (es decir, prueba cutánea (SPT) positivo; IgE sueros positivos) y que no fue confirmado por la impugnación de los alimentos. Este es un punto importante, ya que algunos investigadores (Pasini et al., 2002) han demostrado que los tubos sin suero SPT e IgE en la harina de maíz no tuvo significancia clínica para la mayoría de los pacientes y, por tanto, la alergia alimentaria con el maíz debe ser probado por desafío alimentario. Esto es probablemente debido en parte al cruzamiento reactivo (cross-reactivity) clínicamente insignificante que se produce entre los

granos de cereales y gramíneas. Pasini et al. (2002) informaron que una proteína de 50 kDa fue reconocida por la IgE en suero de pacientes que fueron sometidos a un desafío alimentario positivo a maíz cocido, donde la proteína 50 kDa resultó ser resistente tanto al calentamiento y a la digestión péptica/pancreática. Sin embargo, se necesitan más estudios para caracterizar las proteínas de 50 kDa del maíz.

Además, el maíz (*Zea mays*) contiene dos secuencias que codifican para los posibles alérgenos conocidos como *Zea m 1* y el clon C13 (Astwood et al., 1997). El *Zea m 1* es una secuencia de DNA específica del polen de maíz (Broadwater et al., 1993), que es un homólogo de la *Lol p 1* secuencia que codifica el alérgeno del polen en *Lolium perenne* (ballico) (Pérez, et al., 1990). El clon C13 es también una secuencia específica del ADNc de maíz (Hanson et al., 1989) que codifica para un homólogo de los alérgenos de polen de olivo: de la secuencia *Ole e 1* de *Olea europaea* (Huecas et al., 2001). Aunque ha habido informes de reacciones alérgicas al maíz, el maíz no es considerado como un principal alimento alérgico (Metcalf, 1997) y las alergias de maíz han sido principalmente causadas por el polen.

Como se ha descrito en esta aplicación, no hay una nueva modificación genética en el maíz 1507x59122xNK603; las proteínas expresadas Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT y CP4 EPSPS expresadas en el maíz 1507x59122xNK603 no son alergénicas, y por lo tanto la expresión de estas proteínas no altera las características inherentes del maíz respecto a su potencial alérgico.

#### **Evaluación toxicológica de nuevas proteínas expresadas en el maíz 1507x59122xNK603.**

##### *A) Búsqueda de homología de secuencia de aminoácidos con toxinas conocidas*

La secuencia de aminoácidos de las proteínas CRY1F, CRY34Ab1, CRY35Ab1 y PAT expresadas en el maíz 1507x59122xNK603 fueron comparadas con secuencias de proteínas disponibles en bases de datos públicas usando el algoritmo BLASTP para dicha comparación. Estas búsquedas identificaron un total de 10, 22 y 148 secuencias de proteínas similares a la secuencia de aminoácidos de las proteínas transgénicas, en su mayoría proteínas CRY. Ninguna de las secuencias identificadas mostró alguna significancia biológica de homología de secuencias con toxinas conocidas.

Una comparación similar fue llevada a cabo con los 45 aminoácidos putativos proteicos correspondientes a los identificados ORF (marcos de lectura abierta) que se extienden hacia el borde derecho del T-DNA en el inserto del maíz 1507x59122xNK603. La búsqueda en BLASTP para este ORF mostró que no existe homología de secuencias significativa con toxinas o alérgenos conocidos.

##### *B) Resistencia a proteólisis*

La degradación proteolítica de las proteínas CRY1F, CRY34Ab1, CRY35Ab1 a través de fluido gástrico simulado (por sus siglas en inglés SGF) fue estudiado a través de la estimación de las concentraciones de proteína no digerida y de fragmentos digeridos de manera incompleta después de varios periodos de exposición, usando electroforesis en SDS-PAGE y Western Blotting para el análisis. No fueron detectados fragmentos resistentes a la degradación por proteólisis para las proteínas CRY1F, CRY34Ab1, CRY35Ab1 después de 20 minutos de digestión por SGF. Estos valores de DT son consistentes con aquellos observados con otras proteínas Bt tales como CRY1Ab. La proteína PAT mostró desde un patrón de degradación rápida hasta niveles no detectables en fluido gástrico simulado conteniendo pepsina.

Ver **Anexo IV**, Opinión de la EFSA

#### **i) Número de generaciones que mostraron estabilidad en la herencia del transgen.**

Ver inciso j)

#### **EVENTO DAS-01507-1**

Mediante análisis Southern blot se probó la estabilidad de los genes *cry1F* y *pat* hasta la generación BC4 [Ver Figuras 7 y 10 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 del evento 1507**

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 48). 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 10.

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 aspersion 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 DAS-59122-7**

Mediante análisis Southern blot se probó la estabilidad de los genes *Cry34/35Ab1* hasta la generación BC2S1 [Ver Figuras 11 y 35 del inciso i) del apartado I]

## Herencia Mendeliana del evento 59122

La segregación mendeliana del maíz *B.t. Cry34/35Ab1 evento DAS-59122-7*, se registró y analizó, utilizando el análisis de chi-cuadrado, en ocho fases. Ya que DAS-59122-7 se debe segregar como un solo gen dominante, se le aplicó a cada generación una pulverización con glufosinato de amonio para eliminar las plantas susceptibles al herbicida a fin de determinar si el evento segrega como se esperaba.

Todas las plantas que se habían seleccionado en cada generación de mejoramiento se probaron con dispositivos de flujo lateral (DFL) del ensayo inmunológico de Cry34Ab1. Asimismo, se encontró que todas las plantas que se determinó que eran tolerantes al herbicida también eran positivas para Cry34Ab1. En cinco de las ocho generaciones, no se observaron desviaciones significativas con respecto a las razones de segregación esperadas. Se presentó una desviación importante con respecto a la razón de segregación esperada en las generaciones BC1, BC4 y BC4S1 en sólo una de las dos líneas endocriadas en cada generación. Se hubiera anticipado un patrón más consistente de desviaciones de todas las generaciones y líneas endocriadas esperadas, si el evento fuera responsable de estas inconsistencias. La explicación más probable de estas desviaciones significativas en la generación BC1, es el tamaño más pequeño de la muestra. También podría ser una explicación, un error en el proceso de mejoramiento que permitió plantas extrasusceptibles en la generación BC4 y la generación BC4S1. La desviación en la generación BC4S1 se presentó en sólo una familia de líneas endocriadas y no se observó en ninguna línea endocriada en la generación BC2S1. Debido a que la mayoría de las generaciones no mostraron desviaciones significativas con respecto a las razones esperadas, y las desviaciones que ocurrieron no fueron consistentes a través de las generaciones y endocrías, se concluyó que DAS-59122-7 se hereda como un gen dominante Mendeliano. Una prueba más eficaz con la prueba de chi-cuadrada a través de todas las generaciones con una razón esperada de 1:1 (2644:2750), también dio como resultado una desviación significativa de la razón esperada, al igual que sucedió con la prueba a través de todas las generaciones dentro de la razón esperada de 3:1 (1354:472).

## EVENTO MON-00603-6

[La información 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](#)

### j) Referencias bibliográficas de los datos presentados

- Adang, M. J.**, Firoozabady, E., Klein, J., DeBoer, D., Sekar, V., Kemp, J.D., Murray, E., Rocheleau, T.A., Rashka, K., Staffeld, C., Stock, C., Sutton, D. and Merlo, D. J. 1987. Expression of a *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein gene in tobacco plants. Published in: *Molecular Strategies for Crop Protection*, C. Arntzen and C. Ryan, (ed. Alan R. Liss) Inc. New York p. 345-353.
- Ammann, K.** 2005. Effects of biotechnology on biodiversity: herbicide-tolerant and insect-resistance GM crops. *TRENDS in Biotechnology* 23:388-394
- Aylor, D.**, Baltazar, M.B. and Schoper J. 2005. Some Physical Properties of Teosintle (*Zea mays* subsp. *parviglumis*) Pollen. *J. Exp. Bot.* 56:2401-2407.
- Baltazar M.B.**, Sánchez-González, J.J., De la Cruz-Larios, L. and Schoper, J. 2005. Pollination between maize and teosintle: an important determinant of gene flow in México. *Theor Appl Genet.* 110:519-526.
- Barton, K.A.**, Whiteley, H.R., Yang, Ning-Sun. 1987. *Bacillus thuringiensis* d-endotoxin expressed in transgenic *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. *Plant Physiology* 85:1103-1109.
- Base de Datos de ICTV.** 1998. 15.0.1.0.001 Cauliflower mosaic virus (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/15010001.htm>).

- Beck, E.,** Ludwig, G., Auerswald, E.A., Reiss, B. and Schaller, H. 1982. Nucleotide sequence and exact localization of the neomycin phosphotransferase gene from transposon Tn5. *Gene*, 19, pp. 327-336.
- Bravo, A.** 1997. Phylogenetic Relationships of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -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
- Christensen, A.H.,** R.A. Sharrock, and P.H.Quail. 1992. Maize polyubiquitin genes: Structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant. Mol. Biol.* 18:675-689.
- Cornell University** 1996. Bacteria. In: Biological control: A guide to natural enemies in North America. Weeden, Shelton and Hoffmann (eds). Cornell University, Ithaca, NY (<http://www.nysaes.cornell.edu/Ent/Biocontrol/Pathogens/Bacteria.html>).
- Del Valle, F.R.,** Pico, M.L., Camacho, J.L., Bourges, H. 1983. *Effect of processing parameters on trypsin inhibitor and lectin contents of tortillas from whole raw corn-soybean mixtures* (Efecto de los parámetros de procesamiento en los contenidos de inhibidor de tripsina y lecitina de tortillas de mezclas de maíz-soja cruda entera) . *J. Food Science* 48: 246-252.
- Doebley, J.** (1990). Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. *BioScience* 40:443-448.
- Doebley, J.** 2004. The genetics of maize evolution. *Annu Rev Gen.* 2004;38:37-59.
- Eckardt, N.A.** 2003. Maize genetics 2003. Meeting Report. *The Plant Cell Rep.* 15 (5) 1053-1055.
- Eckes, P.,** Vijtewaal, B., Donn, G. 1989. Synthetic gene confers resistance to the broad spectrum herbicide L-phosphinothricin in plants (Gen sintético confiere a las plantas resistencia al herbicida L-fosfinotricina de amplio espectro). *J. Cell. Biochem.* 13D:334.
- 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).
- Fehr R. W.** 1993. PRINCIPLES OF CULTIVAR DEVELOPMENT. VOLUME 1. Iowa State University. 360-370.
- Evans, S.L.** 1998. Equivalency of Microbial and Maize Expressed Cry1F Protein; Characterization of Test Substances for Biochemical and Toxicological Studies. Report number MYCO98-001, an unpublished technical report by Mycogen Seeds c/o Dow AgroSciences.

- Evans, M.M.S.** and Kermicle, J.L. 2001. Teosintle crossing barrier1, a locus governing hybridization of 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 fosfinotricina acetiltransferasa (PAT): Estudio de digestibilidad *in vitro*). Report number DuPont 3365, an unpublished technical report by E.I. du Pont de Nemours and Company.
- IFBC.** 1990. *Safety Evaluation of Whole Foods and Other Complex Mixtures (Chapter 6)*. In: *Biotechnologies and Food: Assuring the Safety of Foods Produced by Genetic Modification* (Evaluación de la seguridad de alimentos enteros y otras mezclas complejas (Capítulo 6), En: *Bioteconlogías 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.
- Klein, T.M.**, E.D. Wolf, R. Wu, and J.C. Sanford. 1987. High velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature* 327:70-73.
- Kuhn, J.O.** 1998. *Cry1F Bt. var. aizawai Delta-endoprotein: Acute Oral Toxicity Study in Mice* (Delta-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.
- Locke, M. E.**, C. Tyree and N. Weber. 2003. Characterization of a Stacked Hybrid of Transgenic Corn Lines MON-Ø6Ø3-6, DAS-Ø15Ø7-1, and DAS-59122-7 by Comparison to the Individual Lines. An unpublished technical report by Pioneer Hi-Bred International, Inc. Regulatory Science and Registration Protein Analysis Laboratory.
- 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.
- 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.
- 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](http://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.
- <sup>1</sup>**Buchanan, B. B.**, Gruissem, W. and Jones L. R. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plants Physiologists. 294 and 298

## II) 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 presenta en el **Anexo X**.

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

Los lugares donde se realizará la liberación del maíz GM 1507x59122xNK603 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.

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

Con respecto a los incisos a, b y c, los ensayos experimentales se realizarán en campos de agricultores cooperantes y se seguirá el Protocolo de Experimentación que se presenta en el Anexo X.

### 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:

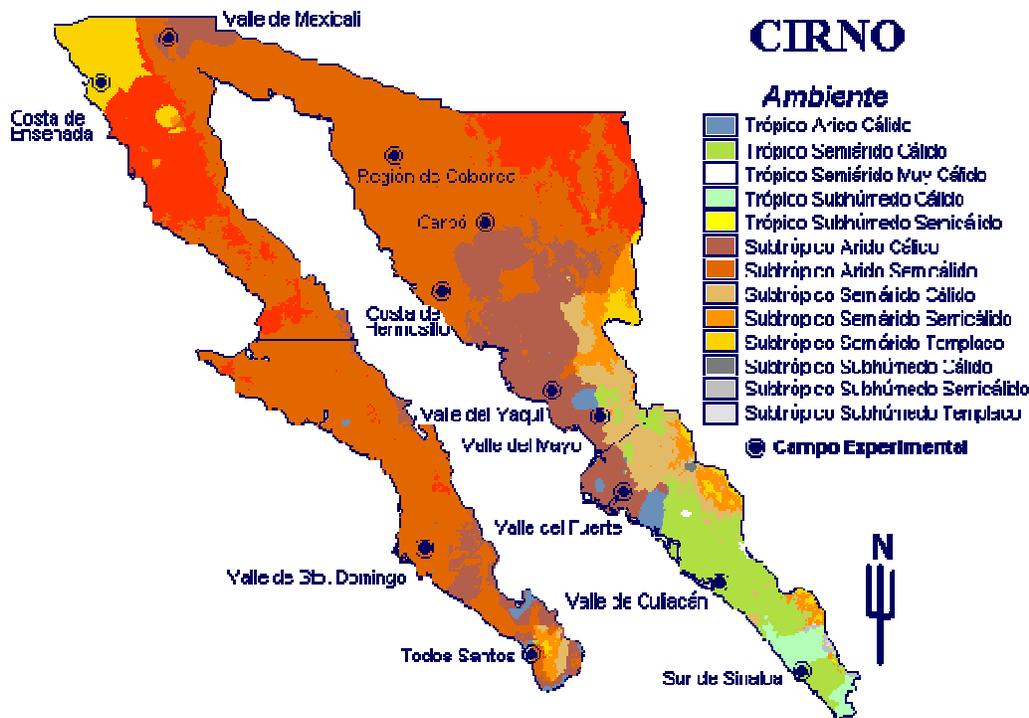
Clima: Subtrópico Árido Cálido

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



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

**a) Estabilidad de la modificación genética del OGM**

Ver inciso (j) del apartado I.

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

Ver inciso (j) del apartado I.

**c) Características del fenotipo del OGM**

Las características fenotípicas del maíz GM 1507x59122xNK603 son equivalentes a su isohíbrido o contraparte convencional, a excepción de la expresión de las proteínas Cry1F, Cry34Ab1 y Cry35Ab1, PAT, CP4 EPSPS.

Ver inciso (j) del apartado I

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

1507

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 patógenos, 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. Esto 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 alérgeno (Van Wert, 1994).

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

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 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 este maíz GM han permanecido cambió, los eventos insertados, nombrados resistencia a insectos y tolerancia a herbicidas, no aparentan proveer una ventaja selectiva fuera de cultivos. 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 de México.

#### **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 más 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 conocen (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.

## 59122

### *Cruzamiento*

La producción de polen y la viabilidad se mantuvieron sin cambios por la modificación genética DAS-59122-7, por lo tanto se espera que la dispersión del polen por el viento y la frecuencia de cruzamiento, no sea diferente al de otras variedades de maíz. El intercambio genético entre DAS-59122-7 y otras variedades de maíz cultivadas será similar a lo que ocurre de manera natural entre las variedades de maíz cultivadas en la actualidad.

Ver punto I.c)

### *Efectos adversos sobre organismos no blanco*

Las características agronómicas del híbrido DAS-59122-7 mostraron estar dentro del rango de valores que se muestran actualmente en híbridos de maíz comercializado, e indican que el hábito de crecimiento del maíz DAS-59122-7 no será alterado. Las observaciones de campo no mostraron modificaciones en la susceptibilidad a enfermedades y plagas, aparte de la diabrotica, el cual no es conocido por ser el principal factor que restrinja el establecimiento o distribución del maíz.

Algunos de los elementos genéticos introducidos en el DAS-59122-7 fueron derivados de patógenos de plantas conocidas, pero en todos los casos los genes responsables de la patogenicidad, no fueron introducidos. Por lo tanto no se espera que la introducción del material genético para resistencia a *Diabrotica* spp. resulte en la expresión de nuevas características patógenas.

El historial de uso y la literatura sugieren que las toxinas bacterianas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 no son tóxicas para los humanos, otros vertebrados e invertebrados no coleópteros. Esta proteína es activa sólo contra insectos coleópteros, por su especificidad; la actividad insecticida depende de su unión a receptores específicos presentes en el intestino medio del insecto, no se espera que estas proteínas insecticidas afecten negativamente a otros invertebrados u organismos vertebrados, incluyendo aves, mamíferos y seres humanos. Estudios de laboratorio y de campo sobre especies representativas apoyo a estas expectativas.

Se realizó una serie de bioensayos de la dieta con proteínas microbianas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 para caracterizar la especificidad insecticida. Las especies probadas fueron: *Diabrotica barberi*, *Diabrotica virgifera virgifera*, *Diabrotica undecimpunctata howardi*, *Ostrinia nubilalis*, *Helicoverpa zea*, *Agrotis ipsilon* y el áfido de la hoja de maíz, *Rhopalosiphum maidis*. Sólo *Diabrotica* spp. mostró una alta mortalidad cuando fue expuesta a proteínas Cry34 y Cry35.

### *Impacto sobre la Biodiversidad*

DAS-59122-7 no tiene características fenotípicas novedosas que extiendan su uso más allá de la actual distribución geográfica de la producción de maíz.

DAS-59122-7 proporciona un método de control alternativo a los existentes para diabrotica, una importante plaga del maíz. El control de las especies de plagas agrícolas es una práctica común que no se limita a la liberación al ambiente de plantas transgénicas. Por lo tanto, la reducción de especies de plagas locales como resultado del cultivo de la DAS-59122-7 no representa un cambio significativo de las actuales prácticas agrícolas. En la actualidad

se permite el uso de insecticidas químicos para el control de diabrotica, aunque la rotación de cultivos representa un método importante su control en algunos países.

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

Ver **Anexo VI**. USDA Petition of Nonregulated Status cry34/35Ab1 Line 59122. Environmental Assessment of BT Cry Proteins.

#### **EVENTO MON-00603-6**

La información 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

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

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.**

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

#### **EVENTO MON-00603-6**

La información 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

#### **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 54). Típicamente los estigmas proporcionan a los granos de polen la humedad y nutrientes que le permiten germinar. El crecimiento del tubo polínico generalmente es visible dentro de los 30 minutos que el grano de polen ha llegado a un estigma receptivo y la fertilización ocurre dentro de aproximadamente 24 horas (Kiesselbach, 1999).

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

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

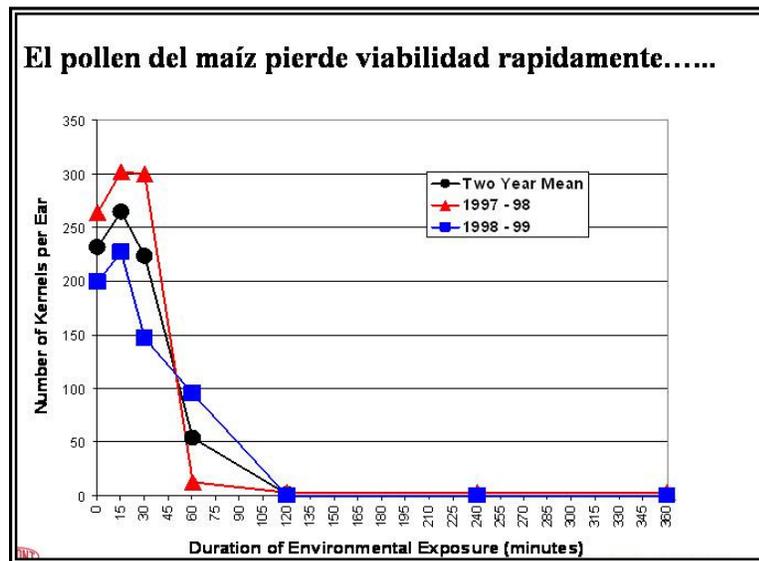


Figura 2. El maíz pierde viabilidad rápidamente.

#### 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
- 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.
- Brookes G.** 2005. GM crops: the global socio-economic and environmental impact-the first nine years 1996- 2004. PG Economics Ltd. UK. 67.
- 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.
- 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.
- Essner, R.** 2003. Agronomic characteristics, quantitative elisa and nutrient composition analysis of hybrid maize lines containing Cry34Ab1, Cry35Ab1 and PAT Genes: Chile locations. Pioneer Hi-Bred International, Inc. unpublished report. Study ID: PHI-2002-050.
- 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 insecttolerant 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.
- Evans, M.M.S.** and Kermicle, J.L. 2001. Teosintle crossing barrier1, a locus governing hybridization of tosintle with maize. *Theor. Appl. Genet.* 103: 259-265.
- 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.
- ILSI** (International Life Sciences Institute). 2003. ILSI Crop Composition Database. [www.cropcomposition.org](http://www.cropcomposition.org). Accessed 8/12/2003.
- Kiesselbach, T.A.** 1999. The structure and reproduction of corn. 50<sup>th</sup> Anniversary Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Hunst P. L.** y Rood T. 2001. Notificación Biotecnológica antes de salir al Mercado (PBM) de *B.t. Cry34/35Ab1 Evento DAS-59122-7*. Mycogen Seeds a cargo de Dow AgroSciences LLC Pioneer Hi-Bred International, Inc. Presentada a: FDA, Centro de Seguridad Alimentaria y Nutrición, Oficina de Seguridad en Aditivos para Alimentos (FDA, *Center for Food Safety and Nutrition, Office of Food Additive Safety*)
- Kogan M.** 2001. USO DE ADYUVANTES PARA DISMINUIR EL EFECTO DEL LAVADO DEL GLIFOSATO DESDE EL FOLLAJE DE *Cyperus rotundus* L. *Cien.Inv. Agr.* 28(3):151 – 156.
- 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.
- OECD.** 2002. Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. ENV/JM/MONO(2002)25. 42p.
- OECD** (Organization for Economic Cooperation and Development). 1993. Safety considerations for biotechnology: Scale-up of crop plants. Paris: OECD.
- OECD.** 1999. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. ENV/JM/MONO(99)13. 24p
- 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.
- Resolución ICA 464/07. (<http://www.ica.gov.co/getattachment/2809a51f-3ae0-485e-80c7-5c833d3fedb5/464.aspx>)
- 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.
- Watson, S. A.** 1982. Corn: amazing maize. General Properties. pp 3-29 in *CRC Handbook of Processing and Utilization in Agriculture*, vol II, Part 1 Plant Products I. A. Wolf (ed.) CRC Press Inc., Florida
- Watson, S. A.** 1987. Structure and Composition. pp 53-82 in *Corn: Chemistry and Technology*. S. A. Watson and P. E. Ransted (eds.) American Association of Cereal Chemists, Inc., Minnesota.

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

##### **a) Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad:**

###### **IV.a.1 Plan de monitoreo detallado**

Ver punto IV.a.3.

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

Ver punto IV.a.3.

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

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 XII**).

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 XII**).

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 de 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 XII** referente al Manual de Buenas Prácticas de Siembra y el **Anexo XI** referente a los Protocolos de Evaluación de Efectividad Biológica y Equivalencia Agronómica.

**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.

**b) Efectos de la liberación sobre la flora y fauna**

No hay antecedentes sobre efectos no esperados en la flora y fauna en los países donde se ha llevado a cabo la liberación del la línea de maíz GM 1507x59122xNK603, ni de sus parentales.

Ver inciso c) apartado III

Ver **Anexo VI:** USDA Petition for Nonregulated Status Cry34/35Ab1 Line 59122 y Environmental Assessment Cry Ecological

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

Ver **Anexo IV** Análisis de Riesgo de la EFSA

Ver **Anexo VI:** USDA Petition for Nonregulated Status Cry34/35Ab1 Line 59122 y Environmental Assessment Cry Proteins

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

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

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

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

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

El Evento DAS-59122-7 tiene como objeto el ofrecer a los agricultores mecanismos baratos, sencillos, altamente eficaces y ambientalmente benignos para controlar a las especies de Diabrotica virgifera, Diabrotica berberis y Diabrotica virgifera zea. El B.t. Cry34/35Ab1 evento DAS-59122-7 ha demostrado ser un control eficaz de estas plagas.

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.

**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**

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

En el **Anexo VII** se encuentran las aprobaciones de los eventos individuales de la USDA.

**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**

**Alternativas Tecnológicas para Contender con la Resistencia a Insectos Leidópteros y Coleópteros.**

Las alternativas tecnológicas al evento genéticamente modificado DAS-59122-7xDAS-01507xMON-00603-6 para el control de insectos coleópteros y 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, permectrina, 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-59122-7xDAS-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 fosfometil 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 no tiene finalidades de salud pública ni tampoco se destinará a la biorremediación.

Sin embargo se cuenta con el número de autorización expedida por la Secretaría de Salud para el maíz con el evento apilado DAS-59122-7xDAS-01507-1xMON-00603-6: COFEPRIS/CEMAR/06330060050065/06. Ver **Anexo VII**.

**VII) A 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.