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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL

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

DAS-59122-7

Para la región de Díaz Ordaz en el estado de Tamaulipas

Para la Protección Contra Algunos Insectos Coleópteros

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 RW (HXRW)
Identificador Único de la OCDE: DAS-59122-7

El maíz genéticamente modificado DAS-59122-7 es un hibrido Pioneer® desarrollado mediante cruzamiento tradicional a partir de una línea transformada genéticamente con el evento DAS-59122-7, que expresa las proteinas Cry34Ab1 y Cry35Ab1, derivadas de *Bacillus thuringiensis* cepa PS149B1. Las proteínas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 confieren resistencia a algunos insectos coleópteros.

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

Ver punto (c)

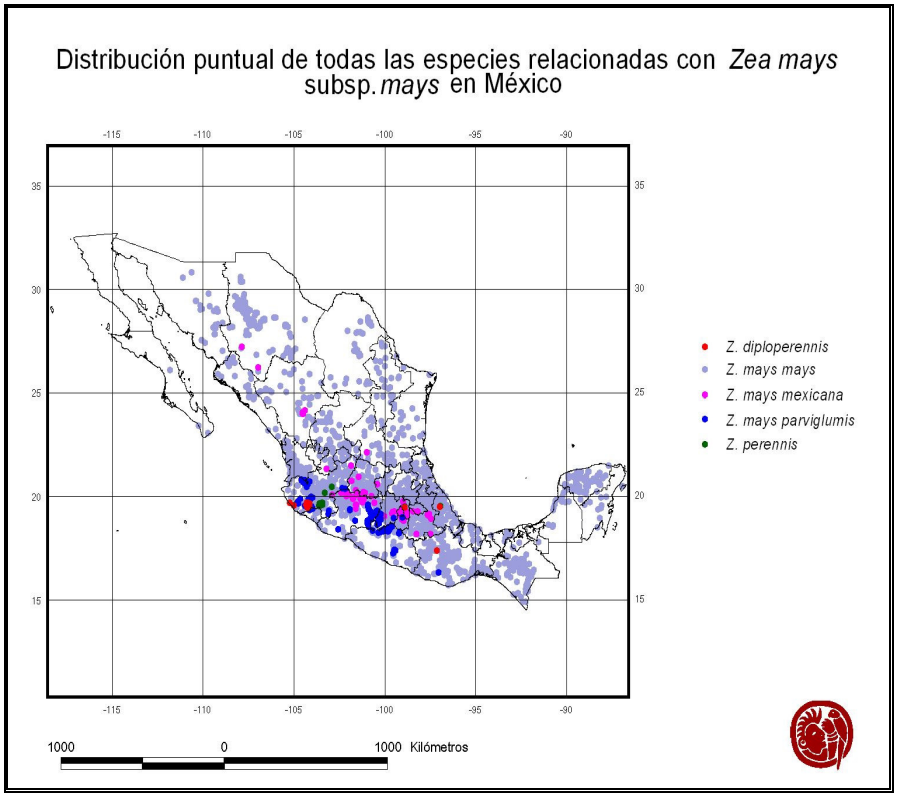
c) Especificación de la existencia de especies sexualmente compatibles

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

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

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

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



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

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

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

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

La evidencia molecular reciente ha confirmado que existe cierto flujo genético limitado entre el maíz y el teocintle lo cual puede ocurrir en cualquier dirección, pero que se presenta a una frecuencia muy baja (Doebley 1990). Incluso si el polen genéticamente modificado fuese a fertilizar el teocintle para formar un híbrido viable, cualquier gen del maíz deberá conferir una ventaja selectiva muy fuerte sobre los teocintles silvestres a fin de continuar en la población de teocintle. La resistencia a las plagas de lepidópteros, tales como el barrenador del tallo, es poco probable que confiera esa ventaja selectiva tan fuerte, especialmente debido a que la resistencia a los insectos herbívoros es común entre las especies silvestres. Además, los fitomejoradores han hecho adelantos importantes en el desarrollo de híbridos de maíz comerciales con mayor resistencia a los insectos (Dicke y Guthrie 1988). Estos

híbridos han estado ampliamente disponibles en América del Norte pero no ha habido un incremento perceptible en la conveniencia del teocintle.

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

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

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

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

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

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

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

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

Nombres científicos:

a) *Bacillus thuringiensis* cepa PS149B1
b) Solanum tuberosum L.
c) Streptomyces viridochromogenes
d) Triticum aestivum L.
e) Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV)
f) *Zea mays* L.

Nombres comunes:

a) *Bacillus thuringiensis* cepa PS149B1
b) Papa
c) Streptomyces viridochromogenes
d) Trigo
e) Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV)
f) Maíz

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

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

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

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

g) Referencia documental sobre origen y diversificación del organismo receptor

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

(USDA, 1995; EPA, 1995a; EPA, 1995b; EPA, 1996a; EPA, 1997, EFSA 2003, Essner 2003).

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

Tipo de herencia de los caracteres producto de los genes insertados

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 8, Figura 40). 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 8). 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

Niveles de expresión proteica de Cry34Ab1, Cry35Ab1 y PAT

Se llevó a cabo un estudio de expresión de campo en Chile durante 2002-2003, el cual abarcó 6 (seis) ensayos de campo separados, en los que se cultivaron la línea híbrida 59122 genéticamente modificada y su control casi isolínea EE05F/GR581 (también conocido como 91). Los niveles de expresión de las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1 y PAT, se determinaron de los tejidos en diferentes etapas de crecimiento de la línea híbrida transgénica (Tabla 13, Tabla 14 y Tabla 15) y la línea de control correspondientes (Tabla 10, Tabla 11 y Tabla 12).

Los resultados del análisis ELISA en los tejidos híbridos para Cry34Ab1, Cry35Ab1 y PAT se proporcionan en las Tablas 10 - 15. No se detectó ninguna proteína Cry34Ab1, Cry35Ab1 o PAT en la línea híbrida de control 91. Para Cry34Ab1, los niveles de expresión media a través de los tejidos fluctuaron de un peso seco en el tejido de 31,5 ng/mg en la planta completa V9 a un peso seco en el tejido de 220 ng/mg en la hoja R4. La proteína Cry34Ab1 se detectó en todos los tejidos ensayados para la línea de maíz híbrido 59122. Para Cry35Ab1, los niveles de expresión media a través de los tejidos fluctuaron de un peso seco en el tejido de 0,02 ng/mg en polen a un peso seco en el tejido de 85,3 ng/mg en la hoja R4. Se detectó la proteína Cry35Ab1 en todos los tejidos ensayados para la línea de maíz híbrido 59122. Para PAT, los niveles de expresión media a través de los tejidos fluctuó de por abajo de LOQ en polen, forraje, grano y planta completa R6 a un peso seco en el tejido de 11,2 ng/mg en la hoja R1.

Tabla 2. Resumen de los niveles de expresión de la proteína Cry34Ab1 (ng/mg peso en seco del tejido) medida en los tejidos recolectados de los híbridos de la línea control 91.

Etapa de Desarrollo	**Tejido**	Evento	**Media del Cry34Ab1 (ng/mg peso en seco del tejido)**	**Desviación Estándar**	**Rango Min/Max del Cry34Ab1 (ng/mg peso en seco del tejido)** [1]	**Número de muestras**[2]
V9	Hoja	91	0	0	0 – 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Planta Completa	91	0	0	0 - 0	5 / 5
R1	Hoja	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Polen	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Tallo	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Planta Completa	91	0	0	0 - 0	6 / 6
R4	Hoja	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Forraje	91	0	0	0 - 0	6 / 6
Maduración	Grano	91	0	0	0 - 0	6 / 6
R6	Hoja	91	0	0	0 - 0	5 / 5
	Raíz	91	0	0	0 - 0	5 / 5
	Planta Completa	91	0	0	0 - 0	5 / 5

[1] Muestra del límite de cuantificación (LOQ) para Cry34Ab1: 0.18 ng/mg peso en seco de la hoja, 0.36 ng/mg peso en seco del polen, 0.12 ng/mg peso en seco de tallo, 0.09 ng/mg peso en seco de raíz, y 0.072 ng/mg peso en seco del grano y del tejido de la planta completa.
[2] Número de muestras: Número de muestras analizadas/número de muestras por debajo del LLOQ

Tabla 3. Resumen de los niveles de expresión de la proteína Cry35Ab1 (ng/mg peso en seco del tejido) mediciones realizadas en los tejidos recolectados del híbrido control de la línea 91.

Etapa de Desarrollo	**Tejido**	Evento	**Medias del Cry35Ab1 (ng/mg Peso en seco del tejido)**	**Desviación Estándar**	**Rango de Min/Max del Cry35Ab1 (ng/mg Peso en seco de tejido)** [1]	**Número de muestras**[2]
V9	Hoja	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Planta Completa	91	0	0	0 - 0	5 / 5
R1	Hoja	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Polen	91	0	0	0 - 0	5 / 5
	Tallo	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Planta Completa	91	0	0	0 - 0	6 / 6
R4	Hoja	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Forraje	91	0	0	0 - 0	6 / 6
Madurez	Grano	91	0	0	0 - 0	6 / 6
R6	Hoja	91	0	0	0 - 0	5 / 5
	Raíz	91	0	0	0 - 0	5 / 5
	Planta Completa	91	0	0	0 - 0	5 / 5

[1] Muestras del límite de cuantificación para Cry35Ab1: 0.36 ng/mg peso en seco de la hoja, 0.072 ng/mg peso en seco del polen, 0.18 ng/mg peso en seco del tallo, and 0.09 ng/mg peso en seco de la raíz y 0.072 ng/mg peso en seco del grano y el tejido de la planta completa.
[2] Número de Muestras: Número de muestras analizadas/número de muestras por debajo de la muestra LLOQ

Tabla 4. Resumen de los niveles de expresión de la proteína PAT (ng/mg peso en seco de tejido) las mediciones se tomaron de los tejidos recolectados de los maíces híbridos de la línea control 91.

Etapa de Desarrollo	**Tejido**	Evento	**Medias de PAT (ng/mg Peso en seco del tejido)**	**Desviación Estándar**	**Rango de los Min/Max del PAT (ng/mg Peso en seco del tejido)** [1]	**Numero de Muestras**[2]
V9	Hoja	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Planta Completa	91	0	0	0 - 0	5 / 5
R1	Hoja	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Polen	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Tallo	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Planta Completa	91	0	0	0 - 0	6 / 6
R4	Hoja	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Forraje	91	0	0	0 - 0	6 / 6
Madurez	Grano	91	0	0	0 - 0	6 / 6
R6	Hoja	91	0	0	0 - 0	6 / 6
	Raíz	91	0	0	0 - 0	5 / 5
	Planta Completa	91	0	0	0 - 0	6 / 6

[1] Muestras del límite de cuantificación (LOQ) para la proteína PAT: 0.15 ng/mg peso seco para hoja, 0.30 ng/mg peso en seco para el polen, y 0.06 ng/mg peso en seco para el tallo, raíz, grano y tejido de la planta completa.
[2] Número de muestras: Número de muestras analizadas/Número de muestras por debajo de la muestra del LLOQ.

Tabla 5. Resumen de los niveles de expresión de la proteína Cry34Ab1 (ng/mg peso en seco del tejido) medición realizada en los tejidos recolectados del maíz híbrido que contiene el evento DAS-59122-7.

Etapa de Desarrollo	**Tejido**	Evento	**Medias del Cry34Ab1 (ng/mg Peso seco del tejido)**	**Desviación Estándar**	**Rango de los Min/Max del Cry34Ab1 (ng/mg Peso en seco del tejido)** [1]	**Número de muestras** [2]
V9	Hoja	DAS-59122-7	49.5	7.79	37.0 - 81.4	30 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	38.8	8.28	24.6 - 56.3	18 / 0
	Planta Completa	DAS-59122-7	31.5	15.5	8.67 - 51.9	6 / 0
R1	Hoja	DAS-59122-7	80.6	12.4	59.1 - 103	30 / 0
	Polen	DAS-59122-7	74.4	6.57	62.9 - 87.2	30 / 0
	Tallo	DAS-59122-7	32.9	4.14	25 - 40.6	30 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	36.8	8.54	23.3 - 52.1	30 / 0
	Planta Completa	DAS-59122-7	45.4	13.5	35 - 71.9	6 / 0
R4	Hoja	DAS-59122-7	220	37.5	143 - 302	18 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	49.1	9.23	33.3 - 67.3	18 / 0
	Forraje	DAS-59122-7	53.1	19.1	30.5 - 82.6	6 / 0
Maduración	Grano	DAS-59122-7	49.7	16.2	28.9 - 84.8	30 / 0
R6	Hoja	DAS-59122-7	163	83.6	4.26 - 296	18 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	49.7	19.6	25.7 - 102	18 / 0
	Planta Completa	DAS-59122-7	76.5	10.3	60.5 - 88	6 / 0

[1] Muestra del LOQ (Límite de Cuantificación) para Cry34Ab1: 0.18 ng/mg peso seco por hoja, 0.36 ng/mg peso seco de polen, 0.12 ng/mg peso seco de tallo, 0.09 ng/mg peso seco para raíz, y 0.072 ng/mg peso seco del grano y tejido de la planta completa.

[2] LLOQ Número de muestras: Número de muestras analizadas/Número de muestras por debajo de la muestra del LLOQ (Límite más bajo de cuantificación)

Tabla 6. Resumen de los niveles de expresión de la proteína Cry35Ab1 (ng/mg peso en seco del tejido) mediciones realizadas en los tejidos recolectados del maíz híbrido que contiene el evento DAS-59122-7.

Etapa de Desarrollo	**Tejido**	Evento	**Medias del Cry35Ab1 (ng/mg Peso en seco del tejido)**	**Desviación Estándar**	**Rango de los Min/Max del Cry35Ab1 (ng/mg Peso en seco del tejido)** [1]	**Número de muestras**[2]
V9	Hoja	DAS-59122-7	40.7	7.29	29.7 - 55.1	30 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	8.06	2.98	4.08 - 15.4	18 / 0
	Planta Completa	DAS-59122-7	7.36	2.19	4.13 - 10.1	6 / 0
R1	Hoja	DAS-59122-7	52.2	12.9	29.2 - 80.8	30 / 0
	Polen	DAS-59122-7	0.02	0.04	0 - 0.15	30 / 26
	Tallo	DAS-59122-7	10.0	2.26	5.64 - 14.2	30 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	5.08	1.57	2.49 - 8.85	30 / 0
	Planta completa	DAS-59122-7	12.3	3.54	9.02 - 18.1	6 / 0
R4	Hoja	DAS-59122-7	85.3	18.9	61.1 - 126	18 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	3.50	0.85	1.74 - 5.76	18 / 0
	Forraje	DAS-59122-7	12.4	2.77	8.44 - 16.4	6 / 0
Madurez	Grano	DAS-59122-7	0.99	0.33	0.48 - 1.58	30 / 0
R6	Hoja	DAS-59122-7	54.4	22.2	1.41 - 77.3	18 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	3.10	2.43	0.72 - 10.6	18 / 0
	Planta Completa	DAS-59122-7	13.9	1.91	10.7 - 16.4	6 / 0

[1] Muestras del LOQ para Cry35Ab1: 0.36 ng/mg peso en seco para hoja, 0.072 ng/mg peso en seco para pollen, 0.18 ng/mg peso en seco para tallo, y 0.09 ng/mg peso en seco para la raíz y 0.072 ng/mg peso en seco para el grano y el tejido completo de la planta

[2] Número de muestras: Número de muestras analizadas/Número de muestras debajo de la muestra LLOQ

Tabla 7. Resumen de los niveles de expresión de la proteína PAT (ng/mg peso en seco del tejido) medidos en los tejidos recolectados del maíz híbrido que contiene el evento DAS-59122-7.

Etapa de Desarrollo	Tejido	Evento	Medias del PAT (ng/mg Peso en seco del tejido)	Desviación Estándar	Rango de los Min/Max del PAT (ng/mg Peso en seco del tejido) [1]	Número de Muestras [2]
V9	Hoja	DAS-59122-7	11.1	3.68	5.61 - 19.2	30 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	0.47	0.15	0.27 - 0.87	18 / 0
	Planta Completa	DAS-59122-7	0.18	0.13	0 - 0.40	6 / 1
R1	Hoja	DAS-59122-7	11.2	3.49	6.36 - 18.2	30 / 0
	Polen	DAS-59122-7	0	0	0 - 0	30 / 30
	Tallo	DAS-59122-7	0.13	0.03	0.07 - 0.20	30 / 0
	Raíz	DAS-59122-7	0.27	0.12	0.11 - 0.62	30 / 0
	Planta Completa	DAS-59122-7	0.13	0.23	0 - 0.58	6 / 4
R4	Hoja	DAS-59122-7	8.13	3.02	0 - 14.2	18 / 1
	Raíz	DAS-59122-7	0.09	0.12	0 - 0.34	18 / 9
	Forraje	DAS-59122-7	0	0	0 - 0	6 / 6
Madurez	Grano	DAS-59122-7	0	0	0 - 0	30 / 30
R6	Hoja	DAS-59122-7	0.38	0.46	0 - 1.33	18 / 9
	Raíz	DAS-59122-7	0.08	0.11	0 - 0.46	18 / 9
	Planta Completa	DAS-59122-7	0	0	0 - 0	6 / 6

[1] Muestras del LOQ para PAT: 0.15 ng/mg peso en seco de hoja, 0.30 ng/mg peso en seco para polen, y 0.06 ng/mg peso en seco para tallo, raíz, grano y tejido de la planta completa.
[2] Número de muestras: Número de muestras analizadas/Número de muestras debajo de la muestra LLOQ

i) Productos de degradación de la proteína codificada por el transgen

No se ha reportado que haya existencia de subproductos considerables por la degradación de la proteína codificada por el transgen. Dado a que hoy en día, la seguridad de las proteínas Cry expresadas en la planta ha sido respaldada por décadas de uso seguro de estas mismas proteínas en pulverizaciones microbianas (Narva *et al.,* 2003). Los productos de *B.t.* derivado de microbios nunca han causado ningún efecto adverso a la salud del ser humano o medio ambiente en más de 40 años de uso extendido. En la Decisión de Elegibilidad de Registro de 1998 de EPA, la Agencia concluyó que los productos microbianos *B.t.* no presentaban efectos adversos inmoderados a los seres humanos o el medio ambiente y que todos los usos de esos productos son elegibles para nuevo registro (USEPA, 1998). Además de esta experiencia histórica en cuanto a su seguridad, existe un reconocimiento general de que *B. thuringiensis* y sus proteínas expresadas son inocuas desde el punto de vista ambiental. Los sistemas de clasificación describen numerosas subespecies de *B.t.* en la base del serotipo del antígeno flagelar (Holt et al., 1993) así como sus proteínas cristalinas (Crickmore et al., 1998). La distribución de estas distintas subespecies, es relativamente uniforme a través del mundo (Martin and Travers, 1989). Aunque aislamientos particulares de *B.t.* pueden presentar diferentes series de proteínas que confieren actividad insecticida, son rápidamente transferibles entre las subespecies a lo largo de la transmisión del plásmido (USEPA, 1998).

DAS/PHI han demostrado que ni las proteínas Cry34Ab1, Cry35Ab1 ni PAT tienen ninguna propiedad asociada con alérgenos alimenticios, es decir, todas se digieren rápidamente en el fluido gástrico simulado; todas son lábiles a la

descomposición a temperaturas elevadas, y ninguna muestra glicosilación. Tampoco ninguna de las proteínas demostró homología con los alérgenos conocidos ni toxicidad aguda en las pruebas efectuadas a mamíferos. Cualquier proteína Cry34/35Ab1 o PAT que consuma el ganado o los seres humanos será degradada rápidamente en el intestino.

j) Patogenicidad o virulencia de los organismos donadores y receptores

Características Patogénicas conocidas.

Las secuencias genéticas obtenidas de los organismos donantes presentes en la línea maíz con el evento DAS-59122-7 carecen de características patogénicas Asimismo, no existen características patogénicas o perjudiciales para la salud humana o animal relacionadas con los genes *cry*34Ab1, *cry*35Ab1 o *pat* 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).

Los elementos genéticos y regulatorios aislados de los organismos detallados a continuación, fueron utilizados en la generación del evento DAS-59122-7: *Bacillus thuringiensis* cepa PS149B1*, Solanum tuberosum* L*., Streptomyces viridochromogenes, Triticum aestivum* L. y Virus del Mosaico de la Coliflor.

El *Bacillus thuringiensis* es un grupo diverso de bacterias Gram-positivas, formadoras de esporas, descubierto por primera vez en Japón en 1901, en gusanos de seda enfermos. Se han utilizado numerosas variedades de *B. thuringiensis* como insecticidas microbianos desde 1938 (Merrit, 1998). En el *Bacillus thuringiensis* cepa PS149B1 (Gen *cry34Ab1* / *cry35Ab1)* los insectos objetivo son susceptibles a dosis orales de proteínas *Bt,* sin embargo no hay pruebas de efectos tóxicos en mamíferos de laboratorio, en aves o en artrópodos no objetivos

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. La masa de esporas es azul, el reverso es de color verde y sus pigmentos son sensibles al pH. Presenta actividad antimicrobiana muy ligera, y no ha habido informes de efectos adversos en humanos, animales o plantas.

ALERGENICIDAD

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.

Para la evaluación de riesgos de alergia, tienen que considerarse dos aspectos por el panel de OGM: 1) Exposición a nuevas proteínas expresadas que pueden estar presentes en partes comestibles de las plantas o en el polen y 2) alteraciones en alergenicidad de toda la planta y productos derivados, por ejemplo, debido a la sobre-expresión de alergenos endógenos naturales como un efecto secundario en la modificación genética.

Evaluación de alergenicidad en nuevas proteínas expresadas

La alergenicidad de las proteínas CRY34Ab1, CRY35Ab1 y PAT fueron evaluadas a través de i) información con respecto a la alergenicidad de la fuente de los transgenes, ii) la búsqueda de cualquier secuencia homóloga entre las nuevas proteínas expresadas y alergenos comunes conocidos y iii) estudios sobre resistencia a digestibilidad simulada *in Vitro*. Además el solicitante proveyó de información sobre la glucosilación y sobre la estabilidad térmica de las proteínas nuevas expresadas.

B. thuringiensis (la fuente de los genes *cry34Ab1 y cry35Ab1*) y *S. viridochromogenes* (la fuente del gen *pat*) no son conocidos como agentes causales de alergias, incluyendo alergias ocupacionales en trabajadores que producen o trabajan con la bacteria *B, thuringuiensis* o productos derivados.

Una comparación de secuencias de la proteína PAT y proteínas alergénicas conocidas fue también llevada a cabo. Los resultados confirmaron que la proteína PAT no comparte homologías significativas de amino ácidos con proteínas alergénicas conocidas.

Las proteínas CRY34Ab1, CRY35Ab1 y PAT no están glucosiladas cuando se expresan en el grano de maíz 59122 en donde solo están presentes en pequeñas cantidades. Dichas proteínas son completamente degradadas durante la digestión *in Vitro* por fluidos gástricos de mamífero simulados y disminuyen su actividad biológica cuando son expuestos 30 minutos a 60° C y a mayores temperaturas. Basados en esta información, el panel de OGM considera que es poco probable que las proteínas nuevas expresadas CRY34Ab1, CRY35Ab1 y PAT sean alergénicas.

Evaluación de alergenicidad en el cultivo GM completo

La alergenicidad del cultivo completo puede incrementarse como un efecto no intencionado (secundario) de la modificación genética, por ejemplo a través de modificaciones cualitativas o cuantitativas del patrón de expresión de proteínas endógenas. Sin embargo no hay indicio de esto en el análisis de composición. Además este asunto no parece relevante para el panel de OGM ya que el maíz no es considerado como un alimento alergénico común. Las alergias de maíz se presentan en baja frecuencia y ocurren principalmente en poblaciones de regiones geográficas específicas. Casos de alergia ocupacional por polvo de maíz raramente han sido reportados. No hay razón para esperar que el uso del maíz GM 59122 incremente algún riesgo de alergia.

TOXICIDAD

Evaluación toxicológica de nuevas proteínas expresadas en maíz 59122.

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

La secuencia de aminoácidos de las proteínas CRY34Ab1, CRY35Ab1 y PAT expresadas en el maíz 59122 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 59122. La búsqueda en BLASTP para este ORF mostró que no existe homología de secuencias significativa con toxinas o alergenos conocidos.

B) Resistencia a proteólisis

La degradación proteolítica de las proteínas CRY34Ab1, CRY35Ab1 a través de fluido gástrico simulado (por sus siglas en ingles 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 Westtern Blotting para el análisis. No fueron detectados fragmentos resistentes a la degradación por proteólisis para las proteínas 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.

C) Toxicidad oral aguda

Estudios de toxicidad oral aguda fueron llevados a cabo en ratones empleando las proteínas microbianas CRY34Ab1, CRY35Ab1 ya sea separadas o combinadas. No hubo indicaciones de efectos adversos cuando la proteína CRY34Ab1 fue administrada por vía oral en 5 ratones macho en dosis de 2700 mg/kg de peso. Tampoco hubo indicaciones de efectos adversos cuando la proteína CRY35Ab1 fue administrada a dosis de 1850 mg/kg de peso. En otro estudio, la mezcla de ambas proteínas en proporción equi-molar, correspondiente a dosis de 482 mg de CRY34Ab1 y 1520 mg de CRY35Ab1 por kg de peso respectivamente, fue administrada en 5 ratones machos y 5 ratones hembra por vía oral. Los materiales de prueba no indujeron efectos toxicológicos relevantes.

El solicitante proporcionó un estudio de toxicidad oral aguda llevado a cabo en 5 ratones macho y 5 hembra a una dosis de ca. 5000 mg de PAT por kg de peso. De acuerdo con el reporte del estudio, no fueron observados síntomas clínicos relacionado con el tratamiento No hubo ninguna lesión patológica en ningún animal. Todos los ratones excepto una hembra, aumentaron de peso a lo largo de la duración del estudio. Los otros animales se desarrollaron de manera normal y el panel de OGM no considera que este efecto haya sido inducido por la administración de la proteína PAT. Además el solicitante hace referencia a estudios de toxicidad con PAT que ya han sido reportados con anterioridad (OECD, 1999).

D) Estudio de dosis de toxicidad oral repetidos

El panel de OGM requirió al solicitante que proporcionara un estudio repetido de toxicidad oral en roedores con las proteínas CRY34Ab1, CRY35Ab1. Este estudio incluyo 5 grupos de 10 ratones cada uno (5 hembras y 5 machos). Tres de los grupos recibieron una mezcla de proteínas microbianas CRY34Ab1 y CRY35Ab1 en su dieta en las siguientes dosis: 1.97/0.078 (dosis baja), 19.7/0.78 (dosis intermedia) o 197/7.8 (dosis alta) mg de CRY34Ab1/CRY35Ab1 por kg de peso por día, respectivamente. Un grupo de control fue alimentado con una dieta estándar de roedores que no contenía las proteínas CRY34Ab1 y CRY35Ab1. Además, un grupo de control recibió una dieta conteniendo 204.8 mg de albúmina bovina de suero (BSA) por kg de peso por día para representar un incremento equivalente en contenido de proteína tal como en la dosis alta del grupo CRY34Ab1/CRY35Ab1.

El nivel de dosis alta seleccionada para este estudio estuvo basado en un margen de 1000 veces la exposición sobre el peor de los posibles escenarios para consumo humano de las proteínas CRY34Ab1 y CRY35Ab1 expresadas en los granos de maíz 59122. La expresión promedio de las proteínas CRY34Ab1 y CRY35Ab1 en los granos de maíz 59122 fue ca. 41.9 µg/g de tejido en peso seco para la proteína CRY34Ab1 y 1.66 µg/g de tejido en peso seco para la proteína CRY35Ab1. Asumiendo que el 100 % de maíz consumido es derivado del maíz 59122 y que no hay degradación de las proteínas CRY34Ab1 y CRY35Ab1 debido al procesamiento de alimentos tanto para consumo humano como animal , la exposición diaria en humanos en el peor de los casos seria 0.197 y 0.0078 mg/kg bw/dia respectivamente. Las dosis administradas en el día 28 del estudio corresponden a 10, 100 y 1000 veces a esta anticipada máxima exposición de humanos en los grupos de dosis baja, dosis intermedia y dosis alta, respectivamente.

El peso y consumo de cada animal fue registrado regularmente. Observaciones clínicas detalladas se llevaron a cabo en todos los animales antes del inicio del tratamiento y una vez por semana a lo largo del estudio. Al final del periodo de alimentación, los ratones fueron sacrificados y se llevaron a cabo estudios de hepatología, química

clínica, examinación de orina, determinación de peso de órganos, así como examinaciones macroscópicas e histopatológicas de órganos seleccionados.

Todos los animales que consumieron dietas conteniendo las proteínas CRY34Ab1/CRY35Ab1 sobrevivieron los 28 días de duración del estudio. Algunas fluctuaciones transitorias en aumento de peso en hembras fueron observadas en los grupos de dosis baja e intermedia. Estas fueron consideradas como no relacionadas con los tratamientos porque no fueron observadas en el grupo de dosis alta y solo ocurrieron en dos momento al inicio del estudio. No hubo diferencias estadísticas significativas en el peso de hembras o machos entre los grupos de proteínas de CRY34Ab1/CRY35Ab1 ni en el control de proteína BSA en todo el periodo de observación. La media de consumo por machos en todos los grupos CRY34Ab1/CRY35Ab1 en los días 2-3 fue estadísticamente diferente del grupo de control con proteína BSA. Sin embargo esta observación solo ocurrió una vez al inicio del estudio sugiriendo que los efectos observados no estuvieron relacionados con los tratamientos. No hubo efectos relacionados con los tratamientos en síntomas clínicos, oftalmológicos, hematológicos, peso de órganos, parámetros de química clínica y observaciones histopatológicas en ratones machos y hembras después de los 28 días de exposición a las proteínas CRY34Ab1/CRY35Ab1 en ninguna de las dosis probadas.

Un estudio de dosis repetida de toxicidad alimentando ratas con la proteína PAT durante 14 días fue proporcionado. Las ratas recibieron dietas conteniendo 0 (control), 5 y 50 g de la proteína PAT/kg de dieta correspondiendo al promedio máximo ingerido de ca. 7.6 y 7.9 g/kg bw/día para machos y hembras respectivamente. Los animales fueron examinados diariamente para observar signos de toxicidad, asi como el alimento consumido y peso fueron registrados regularmente. El consumo de alimento y peso no fueron influenciados por el tratamiento con PAT y no hubo ocurrencia de mortalidad. Al final del periodo de tratamiento, examinaciones hematológicas, de química clínica y orina, así como la determinación de peso de órganos y examinaciones macroscópicas e histopatológicas de órganos seleccionados y tejidos fueron llevado a cabo. El panel de OGM concluyo que la alimentación con proteína PAT a las ratas por 14 días revelo que no hay indicación de efectos adversos hasta la mas alta dosis probada.

<u>Evaluación toxicológica completa de alimento humano o animal derivado del OGM</u>

Estudio de alimento animal sub-crónico

Un estudio de alimentación animal de 13 semanas (90 días) en ratas fue llevado a cabo con granos de Maíz 59122 y recientemente fue publicado (Malley et al, 2007). Grupos de 12 ratas macho y 12 hembras fueron alimentados por 90 días con dietas conteniendo ca. 35 % de granos de maíz 59122, el control no-GM o un maíz comercial no-GM. Dos grupos adicionales recibieron dietas estándar para roedores.

Los animales fueron examinados regularmente para observación de síntomas clínicos, peso, consumo de alimentos y eficiencia de alimentos fueron tomados. Examinaciones neurológicas y oftalmológicas fueron llevadas a cabo al inicio del estudio y al final del periodo de tratamientos. Muestras de orina y sangre fueron tomados aproximadamente los días 45 y 90 y análisis hematológicos, de química sanguínea y orina fueron llevados a cabo. Al final del periodo de tratamientos, las ratas fueron sacrificadas, el peso de órganos seleccionados y tejidos fue determinado y examinaciones histopatológicas fueron llevadas a cabo en todos los animales.

El análisis no revelo diferencias estadísticas significativas en el peso final, aumento de peso, consumo de alimentos o eficiencia de alimentos entre las ratas alimentadas con dietas de maíz 59122 comparado con las de las dietas control de maíz no-GM. En las examinaciones de patología clínica, las ratas macho que recibieron dietas de maíz 59122 mostraron disminuciones estadísticamente significativas de reticulocitos totales y distribución amplia de eritrocitos así como incremento en hemoglobina corpuscular media y la concentración de hemoglobina corpuscular media. Las hembras mostraron un incremento en plaquetas. Estas diferencias fueron pequeñas y los valores fueron generalmente comparables con los del grupo control en este estudio y/o cayeron dentro de los

rangos de las medias de control histórico para ratas de la misma cepa en otros estudios de alimentación sub-crónicos. Además, no hubo diferencias estadísticas significativas en otros parámetros los cuales se esperaría fueran afectados en caso de efectos relevantes. El panel de OGM así, no considera que las diferencias observadas presenten relevancia toxicológica.

No se encontraron eventos de consideración en las examinaciones histopatológicas de órganos seleccionados y tejidos. Las determinaciones de peso de órganos revelaron un incremento estadístico significativo en el peso del útero de ratas hembra que recibieron el maíz 59122 en su dieta. Este efecto fue debido a la presencia de una gran proporción de hembras en este grupo que se encontraban en celo o pre-celo. Además los valores registrados caen dentro de los valores medios históricos y las examinaciones histopatológicas no revelaron efectos adversos en este órgano. En machos se encontró un elevado peso de las glándulas suprarrenales. Este efecto fue menor y no fue estadísticamente significativo cuando los valores fueron comparados con los grupos control. No fueron encontradas diferencias relevantes entre grupos en las examinaciones histopatológicas de este órgano. Así, el panel de OGM no considera los cambios en el peso de este órgano como relevantes toxicológicamente.

El panel cientifico de la EFSA respecto a los OGM notó que solo un nivel de dosis fue administrada en este estudio. De acuerdo a la guía OECD (408) la cual fue asignada para la prueba de químicos, esto es aceptable bajo ciertas condiciones. En este estudio el porcentaje de granos en la dieta fue ca. 35 % lo cual se aproxima al nivel más alto normalmente usado en estudios de alimentación de 90 días con maíz en ratas. Puesto que no se encontraron efectos toxicológicos relevantes, el panel de GMO considera este estudio como aceptable.

Ver Anexo III, Opinon de la EFSA

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

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

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 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. 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).

l) Referencias bibliográficas de los datos presentados

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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, 1998. Decades of safety testing on microbial pesticide B.t. formulations have demonstrated a lack of toxicity to humans and animals, and the absence of adverse effects on non-target organisms and the environment (décadas de pruebas de seguridad del pesticida microbiano Bt ha demostrado la ausencia de toxicidad para humanos y animales, y la ausencia de efectos adversos sobre organismos que no son blanco y sobre el ambiente).

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

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

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: Biotecnologías y control de calidad de la seguridad de alimentos producidos mediante modificación genética) International Food Biotechnology Council. (eds. Coulston, F. and Kolbye, Jr., A.C.). Published in: Regulatory Toxicology and Pharmacology Volume 12, No. 3, December 1990. Academic Press, Inc.

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.

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

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

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. Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM). Proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad.

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

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

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

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

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

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

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.

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.

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

El lugar donde se realizará la liberación del maíz GM 59122 para la evaluación de la Equivalencia Agronómica y Efectividad Biológica se encuentra en el municipio de Díaz Ordaz dentro un polígono de 100 Ha en el estado de Tamaulipas.

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

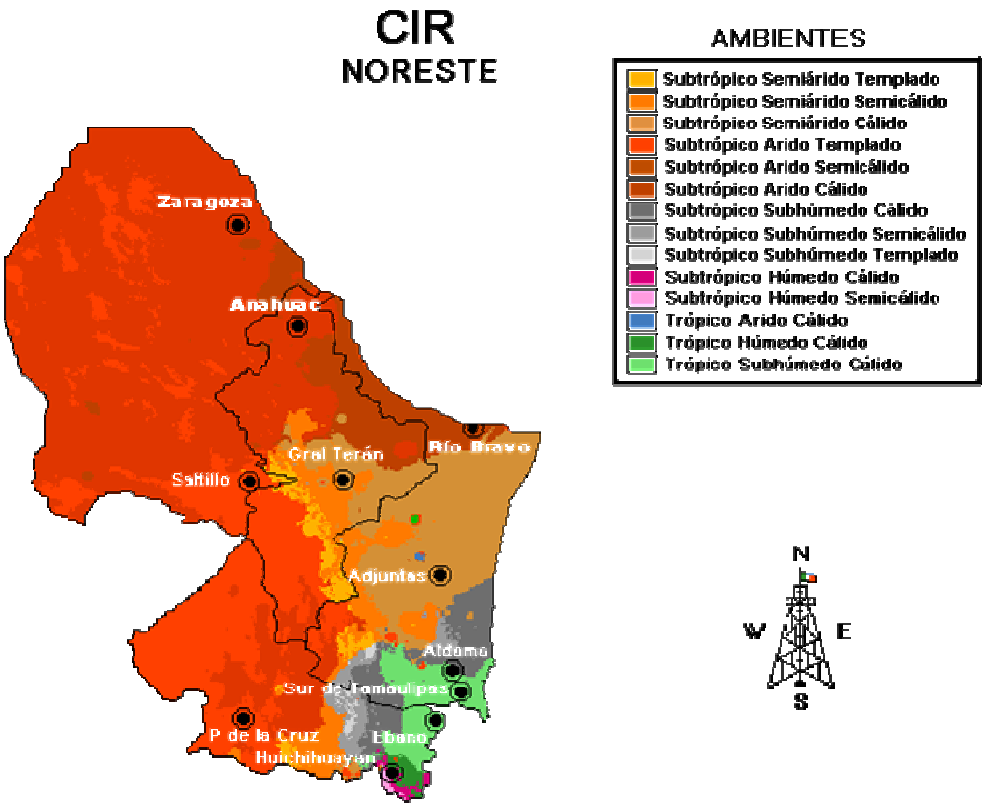
Los polígonos propuestos para la liberación experimental al ambiente de maíz 59122 se encuentran en zonas de producción agrícola.

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



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

a) Estabilidad de la modificación genética del OGM

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

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

Ver expresión de proteínas en el inciso j) del apartado I.

c) Características del fenotipo del OGM

Las características fenotípicas del maíz GM 59122 son equivalentes a su isohíbrido o contraparte convencional, a excepción de la expresión de las proteínas Cry34Ab1 y Cry35Ab1, PAT.

Gen *cry*34Ab1 y *cry*35Ab1

Los genes *cry*34Ab1 y *cry*35Ab1, aislados de la bacteria común del suelo Bacillus turingiensis (Bt) cepa PS149B1, produce las proteínas para el control de insectos (delta-toxinas) Cry34Ab1 y Cry35Ab1. Las proteínas Cry, de las cuales Cry34Ab1 y Cry35Ab1 son solo dos de muchas, que actúan por unión selectiva a los sitios específicos localizados en la superficie del intestino medio de las especies de insectos susceptibles. Posterior a la unión, se forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio, causando parálisis intestinal y finalmente la muerte por sepsis bacteriana. Cry34Ab1 y Cry35Ab1 son letales cuando son ingeridas por las larvas de insectos coleópteros, y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos blanco. No hay sitios de unión para el delta-endotoxinas de B. thuringiensis en la superficie de las células intestinales de mamíferos, por lo tanto, al ganado y los seres humanos no son susceptibles a estas proteínas.

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.

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.

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 numero de cultivos que incluyen, vegetales frescos, y hasta el momento no ha habido reportes de alergenicidad.

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 alergen (Van Wert, 1994).

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

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 adeversos 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 diabrótica, 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 Diabotica 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 con proteínas microbianas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 para caracterizar la especificidad insecticida de las proteínas; 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 diabrótica, 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 controlde diabrótica, aunque la rotación de cultivos representa un método importante su control en algunos países.

Ver Anexo III. Opinion of the scientific Panel on Genetically Modified Organisms. EFSA.
Ver Anexo V. USDA Petition of Nonregulated Status cry34/35Ab1 Line 59122. Enviromental Assesment of Bt Cry.

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

Se registraron las características agronómicas para el híbrido GM 59122 contra su control isolínea. Se concluyó que todas las características agronómicas fueron similares a los de su control isolínea o su contraparte convencional.

Ver Anexo II: Características Agronómicas.

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

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

El panel de OGM de la Comunidad Europea concluye que el forraje y los granos de maíz DAS-59122-7 son equivalentes en composición al maíz convencional, excepto por la presencia de las proteínas *CRY34Ab1, CRY35Ab1* y *PAT.* Aunado a esto, las pruebas de campo no dieron muestra alguna de cambios no esperados en el comportamiento agronómico o en las características fenotípicas.

Las proteínas *CRY34Ab1, CRY35Ab1* y *PAT* no indujeron efectos adversos en los estudios de toxicidad realizados en roedores, estas proteínas son rápidamente degradadas en simulaciones de fluidos gástricos y son inactivadas durante tratamientos de calor.

En un estudio por 90 días en el cuál se alimentaban ratas mediante una dieta que incluía un 35% de granos de maíz DAS-59122-7 no se encontraron efectos adversos. En otro estudio, con pollos tampoco se observaron diferencias en el valor nutricional del maíz DAS-59122-7 en comparación con su equivalente sin la modificación genética. Los estudios en animales son base para lo encontrado en los análisis de composición respecto a que no hay un efecto bajo la introducción intencionada de las proteínas *CRY34Ab1, CRY35Ab1* y *PAT.*

En conclusión, el panel de OGMs considera que la información que existe del maíz DAS-59122-7 sustenta que es un maíz seguro, tanto como su contraparte sin modificación genética, esto en lo que respecta al potencial efecto en la salud humana, animal o al medio ambiente.

Ver Anexo III. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-12)

Ver inciso d) de la Fracción 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.

El método de detección para el evento del maíz DAS-59122-7, ha sido validado por el Laboratorio de Referencia de la Comunidad Europea (CRL) y se puede encontrar los detalles en el Anexo IV.

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).

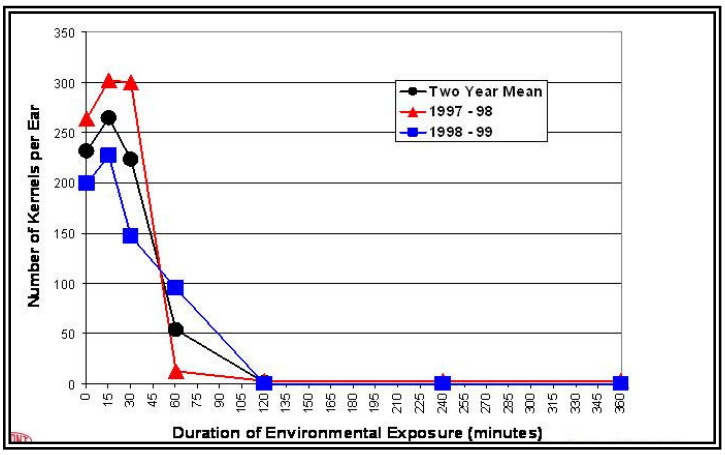


Figura 2. El maíz pierde viabilidad rápidamente.

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 yeas 1996- 2004. PG Economics Ltd. UK. 67.

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.

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

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. Accessed 8/12/2003.

Kiesselbach, T.A. 1999. The structure and reproduction of corn. 50th 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 LLCPioneer Hi-Bred International, Inc. Presentada a: FDA, Centro de Seguridad Alimentaria y Nutrición, Oficina de Seguridad en Aditivos para Alimentos (F*DA, 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 distences 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 XI).

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

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

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

b) Medidas y procedimientos de bioseguridad

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

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

El personal debe conocer sus responsabilidades para garantizar que el material sea manipulado, empacado, etiquetado y almacenado de manera adecuada; que se lleven registros apropiados; y que en el caso de una liberación accidental se sepa qué acciones tomar y por parte de quién. Las copias de los procedimientos operativos normalizados deben encontrarse en forma accesible para todo el personal autorizado.
Las áreas de almacenaje serán etiquetadas mencionando que contienen material vegetal experimental genéticamente modificado. Las etiquetas deben adherirse a los contenedores en el lugar de entrada, recomendándose que el acceso a los depósitos se restrinja sólo al personal autorizado.
El aislamiento en campo puede incluir alguna de las siguientes opciones:

Aislamiento espacial

Los ensayos a campo con organismos vegetales genéticamente modificados pueden aislarse reproductivamente de otras plantas de la misma especie o de parientes sexualmente compatibles separándolos con una distancia mínima. En esta fase experimental de siembra de maíz genéticamente modificado se propone como medida de bioseguridad para el no desespigue de las parcelas el aislamiento por distancia, esto con fundamento en estudios de flujo de polen realizados en México con híbridos convencionales no transgénicos, los cuales han demostrado que el aislamiento espacial para lotes contiguos de maíz se puede obtener a una distancia de la fuente de polen de aproximadamente 300 metros (Luna et al. 2001). Los experimentos aquí descritos se sembrarán utilizando como medida de bioseguridad el aislamiento por distancia de entre 300 y 500 metros con respecto a cualquier otro maíz en base a las recomendaciones establecidas por la CONABIO (S.G.P.A./DGIRA.DDT.0191.06;S.G.P.A./DGIRA.DDT.0192.06;.G.P.A./DGIRA.DDT.0193.06; S.G.P.A./DGIRA.DDT.0194.06), alternativamente se manejarán fechas de siembra para obtener el aislamiento mediante desfases en la época de floración de los materiales de prueba con cuaquier material que se pudiere encontrar a sus alrededores en la mencionada distancia.
Todas las plantas de la misma especie o de especies relacionadas presentes en la zona de aislamiento deben ser removidas antes de la antesis o de la formación de la semilla y tratarse de manera tal que resulten inviables.

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.

Se recomienda aplicar uno u otro tipo de aislamiento.

Acciones correctivas.

Liberación accidental durante el transporte.

Si por accidente durante el transporte se rompen las cajas o sobres y se dispersa la semilla de maíz GM, inmediatamente se procederá a la recolección del material. Asimismo, se identificará plenamente el sitio del

accidente y se establecerá un programa de monitoreo por un período de un año a fin identificar plántulas provenientes de maíz GM y se procederá a su destrucción inmediata por métodos mecánicos o químicos.

Liberación accidental durante la siembra.

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

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

Ver el siguiente punto.

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

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

Acciones correctivas.

Liberación accidental durante el transporte.

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

Liberación accidental durante la siembra.

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

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

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

CONABIO(S.G.P.A./DGIRA.DDT.0191.06;S.G.P.A./DGIRA.DDT.0192.06;.G.P.A./DGIRA.DDT.0193.06; S.G.P.A./DGIRA.DDT.0194.06).

Todas las plantas de la misma especie o de especies relacionadas presentes en la zona de aislamiento deben ser removidas antes de la antesis o de la formación de la semilla y tratarse de manera tal que resulten inviables.

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

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

Ver inciso (f) apartado III

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

Disposición final del OGM.

La semilla GM remanente de la siembra experimental será destruida por incineración; y el grano cosechado será procesado en molino para posteriormente ser incorporado a la cadena industrial y/o agroindustrial. No se permitirá que la el material GM sea introducido a la cadena industrial y/o agroindustrial si no existe autorización por COFEPRIS para el evento.

Los residuos de rastrojo se incorporarán al suelo. Los terrenos donde se siembre el experimento se monitoreará 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 recomendara que el material sea eliminado en el mismo lugar en que se realiza el ensayo para limitar la posibilidad de una liberación accidental.

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

a) Descripción de la zona donde se realizó la liberación

En la Tabla 18 se relacionan las aprobaciones otorgadas para el evento DAS-59122-7 en distintos países.

Tabla 8. Usos aprobados para el organismo vivo modificado

País	*Agencia**	*Fecha de Entrega*	*Aprobación*
USA	EPA	Oct 31, 2003	Ago 31, 2005
	USDA	Dic 18, 2003	Sep 23, 2005
	FDA	Dic 11, 2003	Oct 4, 2004
Japón	MHLW	May 21, 2004	Oct 25, 2005
	MAFF Pecuario	Jun 4, 2004	Mar 31, 2006
	MAFF Medio Ambiente	Abr 12, 2004	Abr 10, 2006
Canadá	Salud de Canadá	Abr 7, 2004	Nov 18, 2005
	CFIA Pecuaria	Abr 7, 2004	Nov 18, 2005
	CFIA Medio Ambiente	Abr 7, 2004	Nov 18, 2005
Australia/ Nueva Zelanda	ANZFA _Importaciones	Jul 6, 2004	Nov 24, 2005
Taiwán	Departamento de Salud y Alimentos Importaciones	Sep 7, 2004	Dic 21, 2005
Unión Europea	Importación/Consumo Humano y Pecuario	Ene 24, 2005	Oct 10, 2007
	Siembra/Consumo Humano y Pecuario	Oct 12, 2005	2Q09
Corea	KFDA Importación-Consumo Humano	Sep 30, 2004	Oct 18, 2005
	RDA Importación-Medio Ambiente	Nov 30, 2004	Dic 21, 2005
México	Departamento de Salud – Consumo Humano/Pecuario	Jun 8, 2004	Ene 10, 2005
China	MOA	Nov 17, 2004	Dic 20, 2006
Filipinas	DOA- Importación (F/F/E)	Dic 9, 2005	Ago 9, 2006

EPA: Agencia de Protección Ambiental; USDA: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos; FDA: Administración de Alimentos y Medicinas; MHLW: Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar; MAFF: Ministerio de Agricultura, Medio Ambiente y Recursos Pesqueros; CFIA: Agencia de Inspección Alimentaria de Canadá; ANZFA: Autoridad de Alimentos de Australia y Nueva

Zelanda; KFDA: Administración de Alimentos y Medicinas de Corea; RDA: Administración de Desarrollo Rural; CTNBio: Comisión Técnica Nacional de Bioseguridad; MOA: Ministerio de Agricultura; DOA: Departamento de Agricultura; F/F/E: Alimento/Alimento Pecuario/Medio Ambiente (Food/Feed/Environment); F/F/C: Alimento/Alimento Pecuario/Siembra (Food/Feed/Cultivation).

b) Efectos de la liberación sobre la flora y fauna

Ver inciso d) del apartado III

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 diabrótica, 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 Diabotica 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 diabrótica, 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 controlde diabrótica, aunque la rotación de cultivos representa un método importante su control en algunos países.

Ver Anexo III. Opinion of the scientific Panel on Genetically Modified Organisms. EFSA.
Ver Anexo V. USDA Petition of Nonregulated Status cry34/35Ab1 Line 59122. Enviromental Assesment 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 V**:** USDA Petition for Nonregulated Status Cry34/35Ab1 Line 59122 y Enviromental Assesment Cry Ecological.

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

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

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

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

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

El Evento DAS-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 barberi, Diabrotica virgifera virgifera* y *Diabrotica virgifera zea*. El B.t. Cry34/35Ab1 evento DAS-59122-7 ha demostrado ser un control eficaz de estas plagas.

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

Ver Anexo VI Carta de aprobacion por la USDA de liberación del evento DAS-59122-7 en Estados Unidos como país de origen.

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

Las alternativas tecnológicas del evento genéticamente modificado DAS-59122-7 para el control de insectos coleópteros 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 organosfosforados, y viceversa. Debido a estos grandes problemas debemos ser en extremo cuidadosos con el uso de estos insecticidas y no sobrecargar al cultivo con los mismos.

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

Carbamatos

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

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

Piretroides

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

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

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

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

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

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).

VII) NÚMERO DE AUTORIZACIÓN EXPEDIDA POR SALUD CUANDO EL OGM TENGA FINALIDADES DE SALUD PUBLICA 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-59122-7: COFEPRIS/CEMAR/04330060050005/05. Ver Anexo VII.

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

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