PHI MÉXICO SA DE CV

INFORMACIÓN NO CONFIDENCIAL

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

DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6

Estación experimental (NRSP) Puerto Vallarta, Estado de Nayarit.

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

Enero 2012

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

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

Promovente:
PHI México S.A. de C.V.

Representantes legales:
Ing. Juan José Virgen Suarez
L.C.P. Edgardo García Vázquez
Lic. María de la Paz Galván Alfaro
PHI México S.A. de C.V.

II. Domicilio para oír y recibir notificaciones, así como el nombre de la persona o personas autorizadas para recibirlas;

Lic. Sandra Patricia Piña Salinas
Gerente de Biotecnología, Regulación y Relaciones Industriales
PHI México, S.A. de C.V.
Carr. Guadalajara-Morelia, KM 21 8601-A
Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco.
CP. 45645. Tel. (33) 3679-7979
Sandra.pina@pioneer.com

M.C. Juan Enrique Campos White
Gerente de Investigación NRSP
PHI México, S.A. de C.V.
Centro de Investigación Puerto Vallarta
Camino Viejo a Valle de Banderas Km. 3 num. 19
Santa Rosa Tapachula, Nayarit C.P. 63731
Tel. (329) 291 0090 ext. 103
enrique.campos@pioneer.com

M.C. Liliana Irene Sánchez
Supervisor Senior de Investigación Operaciones
PHI México, S.A. de C.V.
Centro de Investigación Puerto Vallarta
Camino Viejo a Valle de Banderas Km. 3 num. 19
Santa Rosa Tapachula, Nayarit C.P. 63731
Tel. (329) 291 0090 ext. 113
liliana.sanchez@pioneer.com

Ing. Lizeth Felix Valdez
Asociado de investigacion Regulación
PHI México, S.A. de C.V.
Centro de Investigación Puerto Vallarta
Camino Viejo a Valle de Banderas Km. 3 num. 19
Santa Rosa Tapachula, Nayarit C.P. 63731
Tel. (329) 291 0090 ext. 110
lizeth.felix@pioneer.com

M.C. Sharon E. Hernández Rodríguez
PTR-Regulación.
PHI México, S.A. de C.V.
Centro de Investigación Puerto Vallarta
Camino Viejo a Valle de Banderas Km. 3 num. 19
Santa Rosa Tapachula, Nayarit C.P. 63731
Tel. (329) 291 0090 ext.150.
sharon.hernandez@pioneer.com

Biol. Ana Lucía Padilla Santacruz
Especialista en permisos.
PHI México, S.A. de C.V.
Carr. Guadalajara-Morelia, KM 21-8601-A
Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco.
CP. 45645. Tel. (33) 3679-7979
lucia.padilla@pioneer.com

M.C. Eduardo A. Mendoza Beas
Asistente de Regulación.
PHI México, S.A. de C.V.
Carr. Guadalajara-Morelia, KM 21-8601-A
Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco.
CP. 45645. Tel. (33) 3679-7979
eduardo.mendoza@pioneer.com

M.C. Ashanty Valenzuela
Especialista en permisos.
PHI México, S.A. de C.V.
Carr. Guadalajara-Morelia, KM 21-8601-A
Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco.
CP. 45645. Tel. (33) 3679-7979
ashanty.valenzuela@pioneer.com

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

Con fundamento en los Artículos 42, 43, 70 y 71 de la LBOGM, y Artículos 5, 6 ,7 y 16 del Reglamento de la LBOGM se presenta la Solicitud de Liberación Experimental al Ambiente para maíz genéticamente modificado DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6 en la **Estación Experimental Puerto Vallarta (NRSP), Estado de Nayarit** en el ciclo Otoño-Invierno (O-I) 2012-2013.

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

Generar datos que permitan estimar si la modificación genética del evento DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6 *ha alterado la equivalencia agronómica en comparación con su control no modificado.*

Realizar la exportación no comercial del TOTAL de material y/o producto de maíz generado para continuar con estudios experimentales de selección, mejoramiento genético y avance generacional.

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

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

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

VI. Lugar y fecha, y

Guadalajara, Jalisco; Enero 2012

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

Ver escrito libre.

I) CARACTERIZACIÓN DEL OGM

a) Identificador único del evento de transformación.

Nombre científico: *Zea mays* L.
Nombre común: Maíz
Nombre Comercial: NK603 x HX1
Identificador Único de la OCDE: DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6.

El maíz DAS-Ø15Ø7-1 (1507) fue generado por la inserción de un gen *cry*1F sintético truncado de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) var. *aizawai* y un gen para fosfinotricina acetiltransferasa (*pat*) aislado de *Streptomyces viridochromagenes*. La proteína *Cry1F* confiere resistencia a algunos insectos lepidópteros. La proteína *PAT* confiere tolerancia al ingrediente activo glufosinato de amonio.

El maíz MON-ØØ6Ø3-6 (NK603) fue generado por la inserción de dos copias del gen *cp4 epsps* que codifica para la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) de *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4. La proteína CP4 EPSPS confiere tolerancia a los herbicidas con el ingrediente activo glifosato.

El maíz GM que fue convertido es un híbrido marca Pioneer™, que fue convertido mediante la cruza convencional con las líneas parentales GM DAS-Ø15Ø7-1 y MON-00603-6 para generar el maíz con los eventos apilados DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6

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

Ver punto (c)

c) Especificación de la existencia de especies sexualmente compatibles

El 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*, los cuales no se han reportando en México. Todos los teocintles con excepción del tetraploide *Z. perennis* pueden cruzarse con el maíz para formar híbridos fértiles (Wikes, 1977, Doebley, 1990). Sin embargo, estudios recientes indican que la dirección de la polinización en su gran mayoría es del teocintle (spp. *mexicana*) hacia el maíz (Baltasar *et al.,* 2005) debido a la presencia de barreras genéticas de incompatibilidad (Evans y Kermicle, 2001) y factores físicos de las plantas de teocintle los cuales no permiten que el polen de maíz polinice los estigmas del teocintle.

Tabla 1.Lista de especies emparentadas con el maíz.

Poblaciones de teocintle en México y Guatemala que rara vez se presentan en un solo lugar= ● Indeterminada=■
Estable= ▲ Poca= ◯ Garrison, H.1995.

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

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

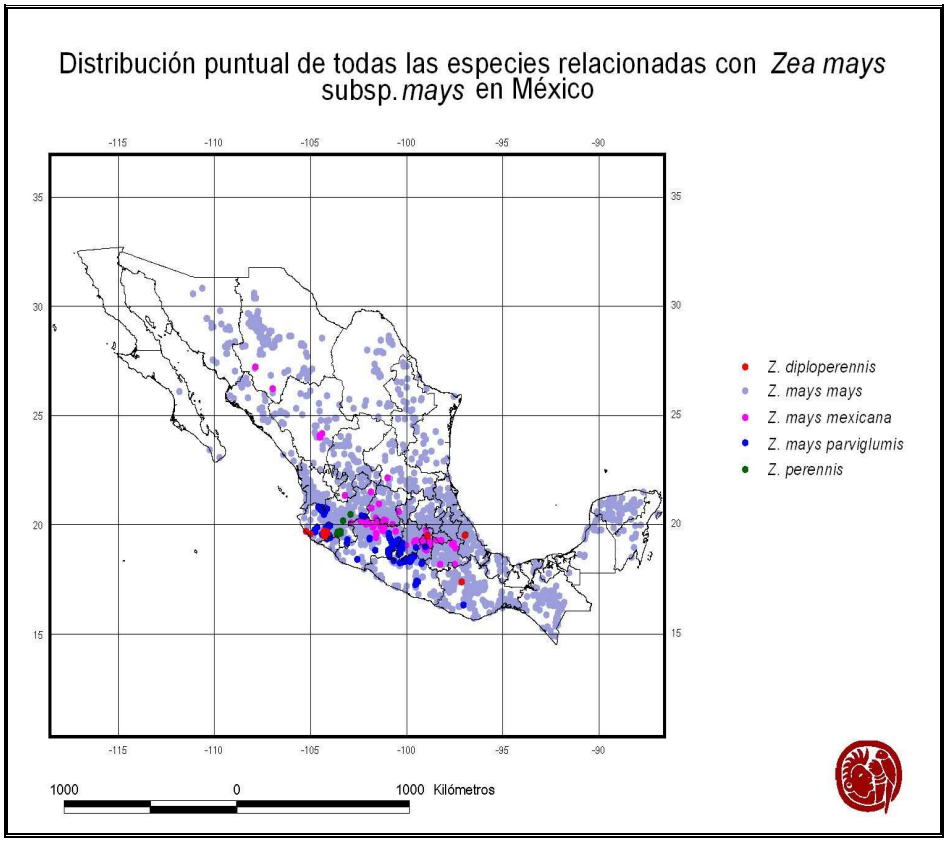


Figura 1. Distribución Puntual de todas las especies relacionadas con *Zea mays* subsp *mays* en México.

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

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

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

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

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

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

Bajo condiciones climáticas adecuadas o mediante el aporte del riego, el maíz es muy productivo, y aunque es originario de zonas semiáridas, las variedades mejoradas actuales sólo resulta rentable cultivarlas en climas con precipitaciones suficientes o bien en regadío. Puede crecer en zonas desde el nivel del mar hasta los 4000 metros, en una gran variedad de suelos. Requiere un clima relativamente cálido y agua en cantidades adecuadas; la mayoría se cultivan en regiones de temporal, de clima caliente y de clima subtropical húmedo. En temporal se siembra de abril a junio y su desarrollo se prolonga hasta agosto o septiembre. Sin embargo, al ser el maíz una planta altamente domesticada, esta no puede proliferar sin los cuidados necesarios que requiere como cultivo.

Cruzamiento con el maíz cultivado: durante las épocas de siembra, es probable que otras compañías semilleras o agricultores siembren maíz en los alrededores de los sitios, existiendo la posibilidad de entrecruzamiento. 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. En México se encuentran presentes: *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 estos, con excepción del tetraploide *Z. perennis*, pueden cruzarse con el maíz para formar híbridos fértiles (Wilkes, 1977; Doebley, 1990). Existen estudios que 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*. 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* L
Clase: Angiosperma
Subclase; Monocotiledónea
Orden; Graminales
Familia: Poaceae
Subfamilia: Panicoideae
Tribu: Maydeae
Género: *Zea*
Especie: *mays*

Organismos donadores

Agrobacterium tumefaciens
Arabidopsis thaliana
Bacillus thuringiensis var. *aizawai*
Oryza sativa
Streptomyces viridochromogenes.
Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV)

Tabla 2. Clasificación Taxonómica de organismos donantes de genes

Clasificación	**Plantas donadoras de genes**	
Nombre común	**Arroz**	**Arabidopsis**
Reino:	Plantae	Plantae
División:	Magnoliophyta	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida	Magnoliopsida
Subclase:	Commelinidae	Dilleniidae
Orden:	Poales	Capparales
Familia:	Poaceae	Brassicaceae
Subfamilia:	Ehrhartoideae	
Tribu:	Oryzeae	
Género:	*Oryza*	*Arabidopsis Heynh*
Especie:	*O. sativa*	*A. thaliana* (L.) Heynh
Nombre Binomial	*Oryza sativa*	*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh

Tabla 3. Clasificación Taxonómica de organismos donantes de genes (cont.)

Clasificación	**Microorganismos Donadores de Genes**			
Nombre común	*Bacillus thuringiensis*	*Streptomyces viridochromogenes*	*Agrobacterium tumefaciens*	Virus del mosaico de la coliflor
Reino:	Eubacteria	Bacteria	Bacteria	---
Filo:	Firmicutes	Actinobacteria	Proteobacteria	---
Clase:	Bacilli	---	Proteobacteria alfa	---
Orden:	Bacillales	Actinomycetales	Rhizobiales	---
Familia:	Bacillaceae	Streptomycetaceae	Rhizobiaceae	*Caulimoviridae*
Género:	*Bacillus*	*Streptomyces*	*Agrobacterium*	*Caulimovirus*
Especie:	*B. thuringiensis*	*S. viridochromogenes*	*A. tumefaciens*	Virus del mosaico de la coliflor
Nombre Binomial	*Bacillus thuringiensis*	*Streptomyces viridochromogenes*	*Agrobacterium tumefaciens*	Virus del mosaico de la coliflor

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

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

La línea apilada 1507 × NK603 fue desarrollado por Pioneer Hi-Bred International, Inc (USA). La línea parental con el evento 1507 ha sido desarrollada conjuntamente por Dow AgroSciences LLC (USA) y Pioneer Hi-Bred International, Inc (USA), y la línea con el evento NK603 fue desarrollado por Monsanto Company (USA). La línea apilada 1507 × NK603 es un híbrido creado a través del cruzamiento convencional de las líneas puras 1507 y NK603.

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 .

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

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

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

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

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

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

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

EVENTO DAS-Ø15Ø7-1

Los resultados del análisis de la segregación Mendeliana proporcionan evidencias de la herencia estable del material genético introducido. La segregación Mendeliana de la línea *Bt Cry1F* 1507 fue realizada y analizada en dos etapas (ver Figura 9). La línea de maíz Hi-II original transformada conteniendo el evento TC 1507, fue cruzada con una línea homocigota elite para producir la semilla F1. La semilla F1 fue retrocruzada a la línea homozigota dos veces mas para producir la semilla BC2F1. La aplicación del herbicida glufosinato en cada generación ayudo a eliminar las plantas susceptibles y obtener semilla homocigota.

Fue sembrada la semilla de la generación BC2F1, y se le aplicó glufosinato. La segregación esperada fue de 1:1 (resistente: susceptible) para tolerancia a glufosinato. En la Tabla 6 se ilustran los resultados de la línea BC2F1.

A continuación, se describe la segregación en generaciones subsecuentes: después de tres retrocruzas, semilla de la línea *Bt Cry1F* 1507 (BC3F1) fue sembrada y polinizada. Se espera que la semilla resultante (BC3F2) contenga 3 partes resistentes y una parte susceptible. Luego, fue sembrada y asperjada con glufosinato para remover las plantas homocigotas susceptibles. Las plantas remanentes (una parte homocigota resistente y dos partes heterozigotas resistentes) fueron cruzadas a una línea susceptible para hacer la semilla F1. Esta semilla fue sembrada y asperjada con glufosinato para confirmar la segregación esperada, 2:1 resistente: susceptible. Los resultados de la línea F1 se presentan en la Tabla 6.

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

Tabla 4. Segregación Mendeliana de la línea *Bt Cry1F* 1507.

Generación	Relación observada[1]	Relación Esperada	X^2	Valor -p	Diferencia Significativa[2]
BC2F1	248 : 278	263 : 263	1.711	0.1909	No
F1	910 : 493	935.3 : 467.7	2.903	0.0884	No

[1] Los datos están expresados como el número de plantas resistentes al glufosinato: número de plantas susceptibles al glufosinato.

[2] Significante al nivel alfa = 0.05

Expresión de las proteínas y su localización

Gen *cry1*F

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

Ver localización del gen *cry*1F en el mapa de la inserción en la Figura 2.

Gen *pat*

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

Ver localización del gen *cry*1F y *pat* en el Mapa de la Inserción en la Figura 7.

Gen *cp4 epsps*

El gen codifica para una forma tolerante a glifosato de la enzima 5-sintasa enolpyruvlyshikimate-3-fosfato (EPSPS) que fue aislado de la bacteria del suelo *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4. El glifosato se une específicamente al la enzima EPSPS y la inactiva; la enzima EPSPS participa en la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina y triptófano, y está presente en todas las plantas, bacterias y hongos.*

La localización del gen *cp4 epsps* se encuentran en el compendio de información que Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las autoridades competentes, y al cual se ha dado autorización de acceso mediante el oficio presentado el en anexo VIII.

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

i) **Descripción del método de transformación**

EVENTO DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø3-6

Los eventos 1507 y NK603 en maíz transgénico fueron transformados con construcciones genéticas separadas y fueron apilados mediante técnicas de cruzamiento tradicional para obtener el híbrido 1507xNK603 conteniendo las inserciones moleculares de los dos eventos.

EVENTO MON-ØØ6Ø3-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-ØØ6Ø3-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo VIII.

j) Descripción, número de copias, sitios de inserción y expresión de las secuencias irrelevantes para la expresión de la modificación genética y en su caso la identificación de los efectos no esperados.

Número de copias del gen *cry*1F

1 copia completa y 1 copia incompleta adicional que carece del promotor ubiquitina por lo que no es funcional.

Número de copias del gen *pat*

1 copia completa

Ver caracterización molecular en el inciso i) del apartado I

EVENTO MON-ØØ6Ø3-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-ØØ6Ø3-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo VIII.

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

EVENTO DAS-Ø15Ø7-1

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

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

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

La fosfinotricina, el ingrediente activo del herbicida glufosinato de amonio, inhibe la enzima glutamina sintetasa de la planta, lo que resulta en la acumulación de los niveles letales de amoníaco en las plantas sensibles dentro de las horas de aplicación. Cabe mencionar que el amoníaco es producido por las plantas como resultado de procesos metabólicos normales (CFIA, 2002).
Se ha reportado que la proteína *PAT* muestra una muy alta especificidad de sustrato contra el L-glufosinato, el ingrediente activo del herbicida glufosinato de amonio, sin embargo, no selecciona por sustrato al D-glufosinato, un isómero óptico del L-glufosinato. Por consiguiente, ni las proteínas *Cry* ni las proteínas *PAT* interfieren en las rutas metabólicas del organismo receptor.

El gen de tolerancia al glufosinato de amonio insertado en el maíz con la línea 1507xNK603 codifica para la enzima fosfinotricina acetiltransferasa (*PAT*). Esta enzima desintoxica la fosfinotricina por acetilación en un compuesto inactivo. La fosfinotricina acetiltransferasa tiene una alta especificidad de sustrato y los datos incluidos en la solicitud demuestran que no acetilan otras enzimas o proteínas.

EVENTO MON-ØØ6Ø3-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-ØØ6Ø3-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo VIII.

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

EVENTO DAS-Ø15Ø7-1

Cry1F

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

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

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

Producción de aleloquímicos

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

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

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

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

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

PAT

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

EVENTO MON-ØØ6Ø3-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-ØØ6Ø3-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo VIII.

m) Patogenicidad o virulencia de los organismos donadores y receptores

EVENTO DAS-Ø15Ø7-1

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

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

Las variedades de *Bacillus thuringiensis* no tienen antecedentes de causar alergias. En los casi 30 años de su uso comercial, no se han presentado reportes de alergenicidad a *Bt* (EPA, 1995). Las formulaciones microbianas a base de *Bt* han sido utilizadas en un gran número de cultivos que incluyen, vegetales frescos, y hasta el momento no ha habido reportes de alergenicidad. Esto establece que la proteína *Cry1F* no tiene riesgo de producir alergias.

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

El Virus del Mosaico de la Coliflor es un caulimovirus de ADN con un rango de huéspedes principalmente restringido a plantas crucíferas (Base de datos ICTV, 1998). Las secuencias de ADN que se originan a partir del Virus del Mosaico de la Coliflor, el promotor 35S y el terminador, no presentan características patogénicas (USDA, 1995). *Agrobacterium tumefaciens* bacteria comúnmente encontrada en el suelo; no se considera patogénica para humanos y animales (Valentine, 2003).

ALERGENICIDAD

Se llevó a cabo un análisis bioinformático para evaluar el potencial alergénico de las secuencias de las proteínas *Cry1F* y *PAT*. Las secuencias de 605 residuos aminoácidos de la proteína *Cry1F* y 183 residuos aminoácidos para la proteína *PAT*, fueron comparadas con una base de datos de 1471 secuencias alergénicas conocidas y putativas que comprenden el conjunto de datos FARRP10 de la Universidad de Nebraska (actualización 1/2010 para la proteína *Cry1F* y Enero, 2010 para la proteína *PAT*). Se evaluaron las potenciales identidades entre *Cry1F* y *PAT* con las proteínas en la base de datos de alergenos mediante la herramienta de alineación FASTA34 usando los parámetros estándar. Para indicar el potencial de reactividad cruzada se usó como parámetro el 35% o más como marco de identidad sobre secuencias de 80 o más aminoácidos de longitud entre la proteína en cuestión y cualquier alérgeno (FAO/WHO 2001; Codex 2003). No se encontraron coincidencias mayores a 35% sobre ≥80 residuos para ninguna de las secuencia protéicas (*Cry1F* y *PAT*). Adicionalmente, las secuencias de las proteínas *Cry1F* y *PAT* fueron evaluadas para 8 o más coincidencias de aminoácidos idénticos contíguos para los alergénos contenidos en la base de datos arriba descrita; como resultado, no se encontraron coincidencias para ninguna de las proteínas en cuestión.

Es importante mencionar, que las formulaciones conteniendo poteínas *Cry* se han utilizado en un gran número de cultivos, incluyendo vegetales frescos, sin ningún reporte de alergenicidad. Esto establece bases sólidas para determinar la ausencia de alergenicidad de la proteína *Cry1F.*

TOXICIDAD

Análisis bioinformático

Para buscar la potencial similitud con toxinas conocidas, las secuencias de aminoácidos de las proteínas *Cry1F* y *PAT* fueron comparadas con el conjunto de datos NCBI Entrez Protein usando el algoritmo BLASTP 2.2.13 (15/10/2010), el cual incorpora entradas no redundantes de traducciones de nucleótidos de GenBank y RefSeq junto con secuencias del SWISS-PROT (http://www.expasy.org/sprot/), PIR (http://pir.georgetown.edu/), PRF (http://www.prf.or.jp/index-e.html) y PDB (http://www.wwpdb.org/). Se usó un valor E =1.0 para generar una significancia biológica similar entre las proteínas de interés y las proteínas en el conjunto de datos NCBI. La matriz de valores usada fue la estándar (BLOSUM62), el filtro de baja complejidad fue apagado y el número de alineaciones arrojadas fue ajustado al valor máximo (2000).

La secuencia de la proteína *Cry1F* arrojó 508 resultados con un valor esperado (E) menor a 1.0. Solo 47 secuencias arrojadas mediante la búsqueda BLASTP fueron de organismos diferentes a *Bacillus thuringiensis*; 14 de esas secuencias son de otras familias de *Bacillus*. La 33 secuencias protéicas restantes, incluyendo 21 proteínas hipotéticas fueron de varias especies. Cinco de las 12 secuencias no hipotéticas están registradas como delta-endotoxinas bacterianas o proteínas cristal de tipo pesticida debido a que poseen uno o mpas dominios conservados, mientras que las 7 secuencias restantes tienen descripciones variadas. Seis de las 7 secuencias aparentemente presentan la mimsma secuencia de la bacteria *Saccharomyces cerevisiae* y está cerca del límite de significancia (E=0.99), mientras que la séptima parece tener un registro perdido "señal de la vía de traslocación doble-arginina" del pryecto de secuenciación de *Ralstonia eutropha*. Ninguna de las secuencias de proteínas arrojadas por la búsqueda BLASTP representa problemas de seguridad que pudieran aparecer por la expresión de *Cry1F* en plantas genéticamente modificadas.

La búsqueda BLASTP usando la secuencia de la proteína *PAT* como consulta arrojó 1555 resultados con un valor esperado (E) menor a 1.0. Las dos alineaciones con puntuaciones más altas se atribuyen a las proteínas PAT de *Streptomyces viridochromogenes* (100% de identidad a la secuencia en consulta) (Straueech *et al*., 1988) y la proteína Bar de *Streptomyces hygroscopicus* (84% de identidad a la secuencia en cosulta) (Thomson *et al.,* 1987). Ambas proteínas han sido objeto de extensivas evaluaciones de seguridad y han sido consideradas seguras para su expresión en plantas transgénicas (Hérouet *et al.*, 2004). Muchas de las secuencias resultantes de la búsqueda representan contrucciones sintéticas, que consisten primariamente de vectores de transformación conteniendo porciones de las proteínas *PAT* o *Bar* antes mencionadas.

De las secuencias restantes, 485 fueron anotadas como fosfinotricina acetiltransferasas. La mayoría de los alineamientos PAT restantes son secuencias caracterizadas como acetiltransferasas, N-acetiltransferasas, o GCN5 o GNAT acetiltransferasas conocidas o putativas. Adicionalmente, múltiples resultados fueron sortasas, acetiltransferasas, proteínas resistentes a antibióticos o toxinas, acetiltransferasas alanina-proteína-ribosomal, o histona acetiltransferasas. Treinta y un de los alineamientos restantes poseen dominios adicinales o no contienen ningún dominio relacionado a acetiltransferasas, mientras que 179 secuencias están registradas como hipotéticas, predichas, desconocidas o no nombradas. Ninguno de los 1555 registros representa problemas de seguridad que pudieran aparecer por la expresión de *PAT* en plantas GM.

Toxicidad oral aguda

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

Cinco ratones machos y cinco hembras fueron dosificados con un material de prueba al 15% w/v en 2% w/v carboxi-metilcelulosa (CMC) en dos dosis con un total de 33.7 ml/kg de peso cuerporal. Las dosis fueron suministradas en dos volúmenes iguales con aproximadamente una hora de diferencia. Se realizaron observaciones de mortalidad y/o patológicas clínicas o de comportamiento tres veces en el día 0 y dos veces el resto de los 14 días que duró el estudio. El peso se midió en los días 7 y 14. Al finalizar, los animales de prueba fueron sacrificados para realizar la necropsia, las observaciones presentaron la ausencia de mortandad y tampo se observaron señales clínicas y no se notaron irregularidades al momento de

la necropsia. El LD_{50} en el estudio fue determinado como mayor a 5050 mg/kg. Cuando la pureza del material de prueba se ajustó (11.4%), el LD_{50} en el estudio fue mayor de 576 mg/kg. Esta dosis es 12,190 veces mayor que la estimada que un humano podría comer si es alimentado con maíz con el gen *cry*1F (Wolt, 1999). Esto suponiendo que el 100% del cultivo de maíz produjera proteína *Cry1F* y la proteína no se degradara o no fuera eliminada en el procesamiento de alimentos. Estos cálculos extremadamente conservadores del margen de exposición apoyan la teoría de la seguridad de la proteína *Cry1F* en humanos.

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

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

Ver Anexo I. Opinion of the scientific panel. EFSA

EVENTO MON-ØØ6Ø3-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-ØØ6Ø3-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo VIII.

Alergenicidad

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

Toxicidad

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

Referencia:

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

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

EVENTO DAS-Ø15Ø7-1

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

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

El fragmento de ADN *Pme* I (Inserto PHI8999A; Figura 9) utilizado para transformar el evento TC1507 fue obtenido del plásmido PHP8999 (Figura 8). La porción del plásmido que no fue usado en el proceso de transformación contenía el gen *nptII* que confiere resistencia a kanamicina. Para corroborar que, como se esperaba, la línea *Bt Cry1F* 1507 no contiene el gen *nptII*, ADN geonómico fue cortado con al enzima *Pme*I y hibridizada con la sonda *nptII*. El análisis Southern es ilustrado en la Figura 11. No se detectaron bandas hibridizantes con la sonda de ADN, lo cual confirma que el gen para resistencia a la kanamicina no se encuentra presente en la línea de maíz *Bt Cry1F* 1507.

EVENTO MON-ØØ6Ø3-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-ØØ6Ø3-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo VIII.

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

9 generaciones mostraron estabilidad en el análisis de segregación mendeliana y 6 generaciones en el análisis southern blot [ver fundamento en el inciso j) del apartado I].

p) Referencias bibliográficas de los datos presentados

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

EFSA. 2005. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (reference EFSA-GMO-NL-2004-02) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds *The EFSA Journal* (2005) 182, 1-22

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

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

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

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

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

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

Evans, M.M.S. and Kermicle, J.L. 2001. 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.

Hérouet C., Esdaile D.J., Mallyon B.A., Debruyne E., Sculz A., Currier T., Hendrickx K., van der Klis R.J., Rouan D. 2004. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the *pat* and *bar* sequences that confer tolerance to glufsinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regul Toxicol Pharmacol.* 41 (2):134-49.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pearson W.R. 2000. Flexible sequence similarity searching whit the FASTA3 program package. Methods Mol Biol. 132:185-219.

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

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

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

Straueech E., Wohlleben W., Pülher A. 1988. Cloning of a phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Strptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Strptomyces lividans and Escherichia coli.* Gen*. 63(1: 65-74.*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Superficies totales de los polígonos de liberación

Los lugares donde se realizará la liberación del maíz DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø3-6 para su evaluación se encuentran en el Municipio de Bahía de Banderas, en la Estación Experimental Puerto Vallarta (NRSP), Estado de Nayarit; localizándose en un polígono los predios **posibles propuestos** para realizar la liberación dentro de las coordenadas correspondientes. La superficie final, cantidad de semilla y fecha de siembra para la evaluación del experimento se muestran en la Tabla 7.

b) Ubicación en coordenadas de UTM, del polígono o polígonos donde se realizará la liberación.

Tabla 5. Coordenadas geográficas y UTM del polígono para la Estación experimental Puerto Vallarta (NRSP), Municipio de Bahía de Banderas.

Polígono de siembra en la Estación experimental Puerto Vallarta (NRSP), Municipio de Bahía de Bandera, Nayarit.

Vértice	Coordenadas del polígono			
	GEOGRÁFICAS		UTM	PUNTO
	105°14'31.44"O	-105.242067°	474801.79	LONGITUD (X)
A	20°45'26.88"N	20.757468°	2295325.2	LATITUD (Y)
	105°12'11.90"O	-105.203305°	478839.38	LONGITUD (X)
B	20°46'34.24"N	20.776177°	2297390.18	LATITUD (Y)
	105°13'13.35"O	-105.220375°	477067.4	LONGITUD (X)
C	20°48'26.87"N	20.807464°	2300855.06	LATITUD (Y)
	105°15'35.63"O	-105.259897°	472951.2	LONGITUD (X)
D	20°47'17.13"N	20.788092°	2298717.26	LATITUD (Y)

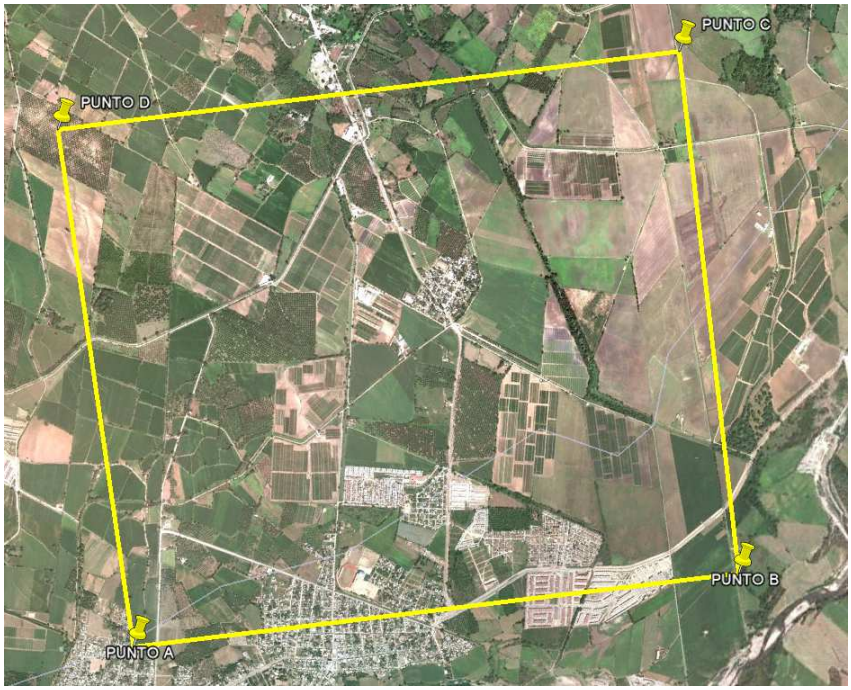


Figura 2. Polígonos de siembra en la estación experimental Puerto Vallarta (NRSP) Municipio de Bahía de Banderas, Nayarit.

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:

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;

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

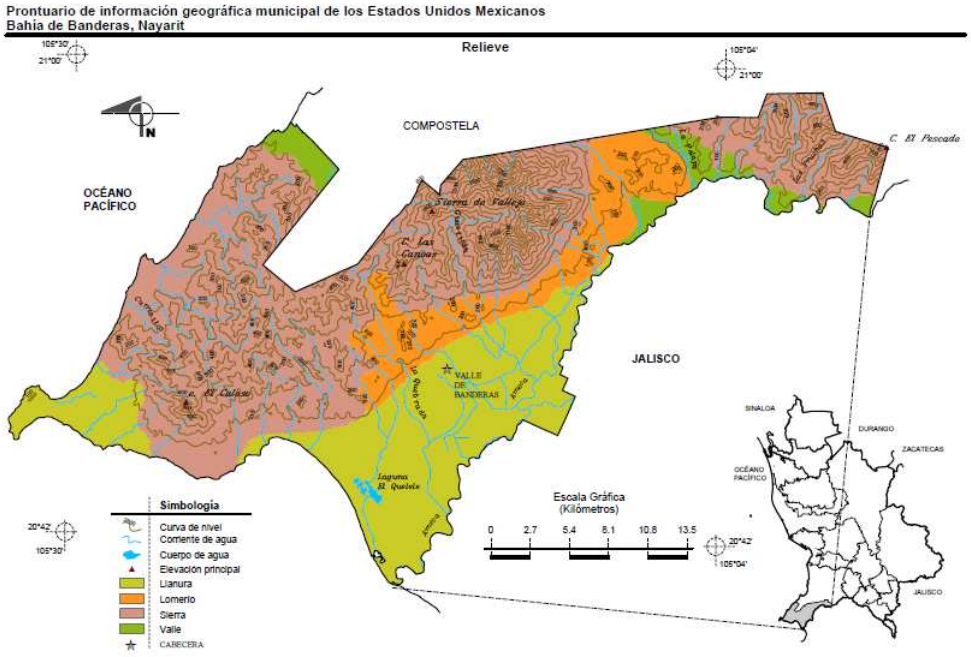
Ver inciso c), numeral I.

2.c.2 Descripción geográfica.

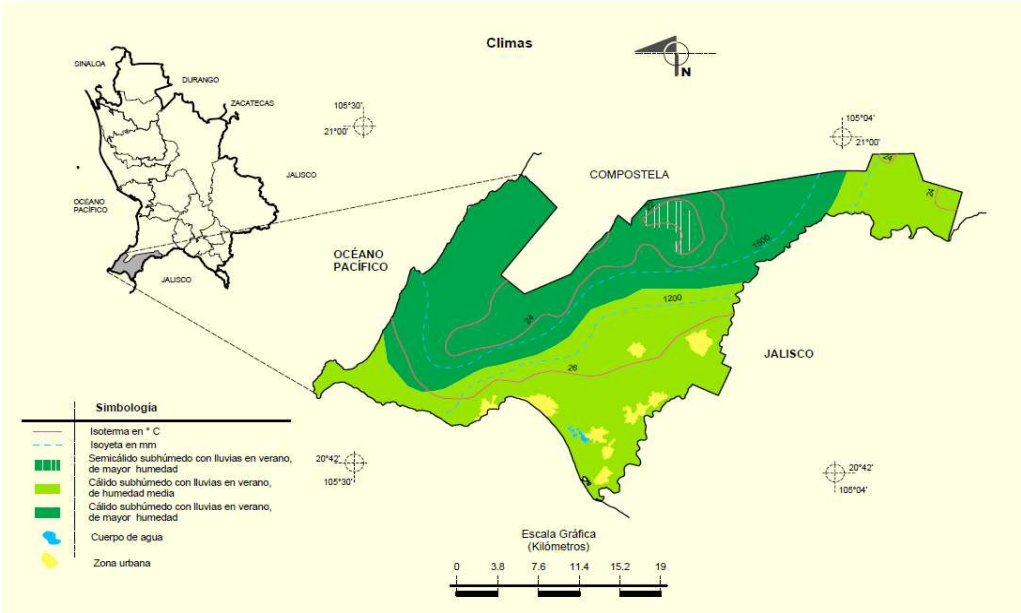
Figura 3. Información geográfica - climática del Estado de Nayarit.

DESCRIPCIÓN DEL LA ZONA CORRESPONDIENTE POLÍGONO DE LIBERACIÓN.

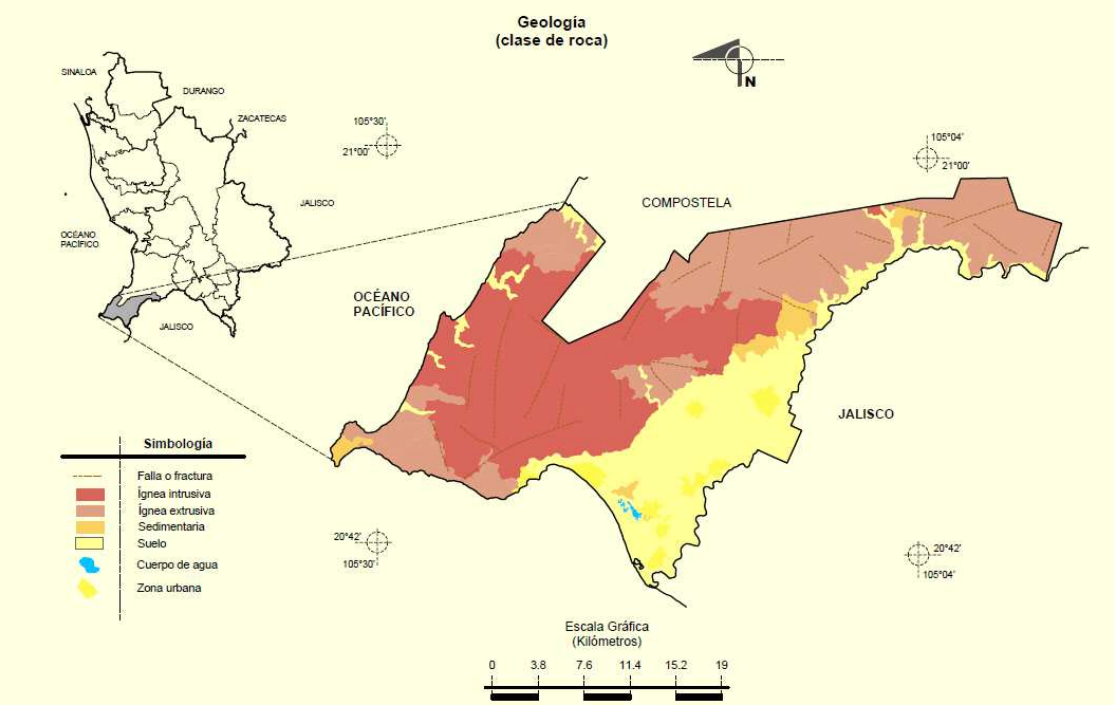
A) Descripción de relieve,



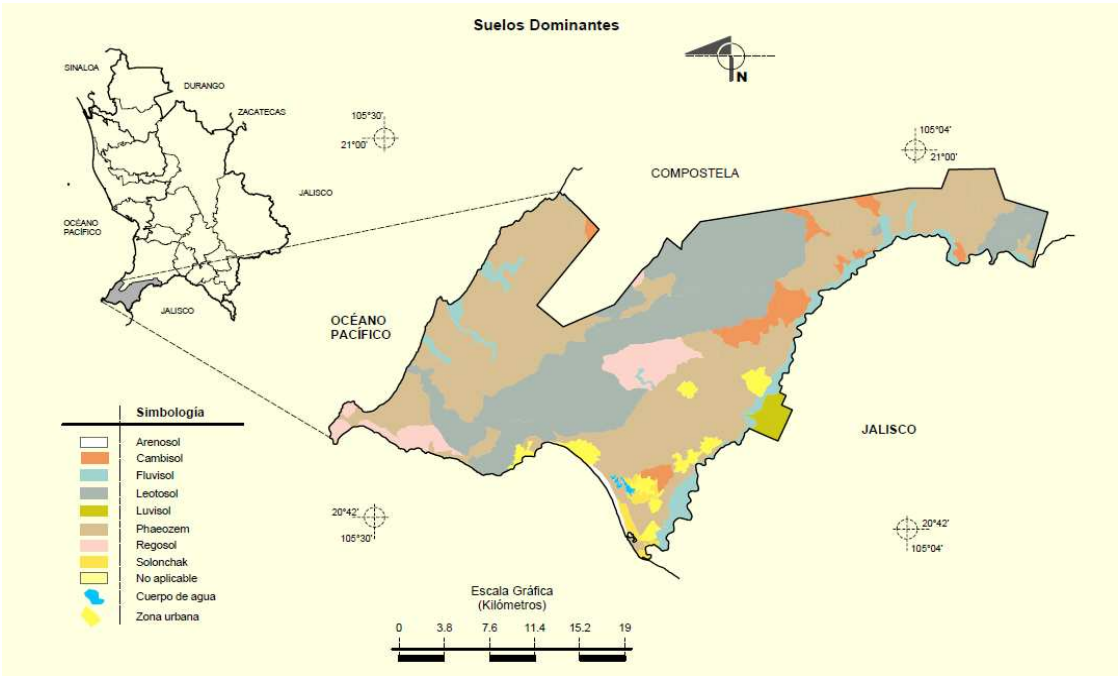
B) Descripción de climas.



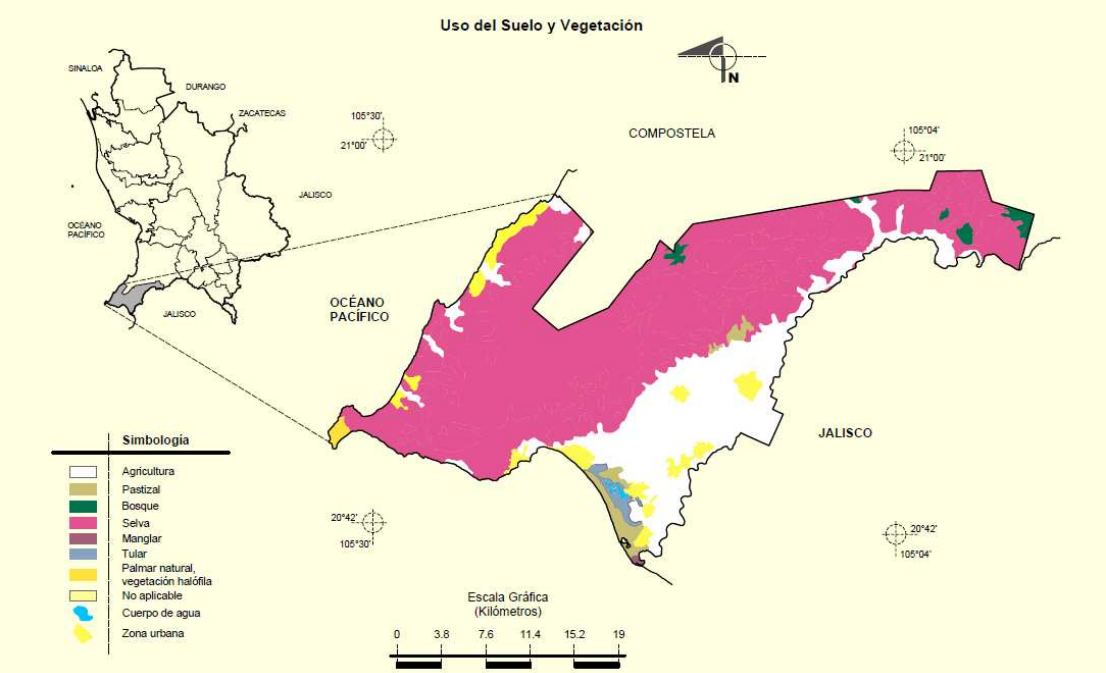
C) Descripción geológica.



D) Descripción de suelos dominantes



E) Descripción de suelos y vegetación.



F) Áreas naturales protegidas.

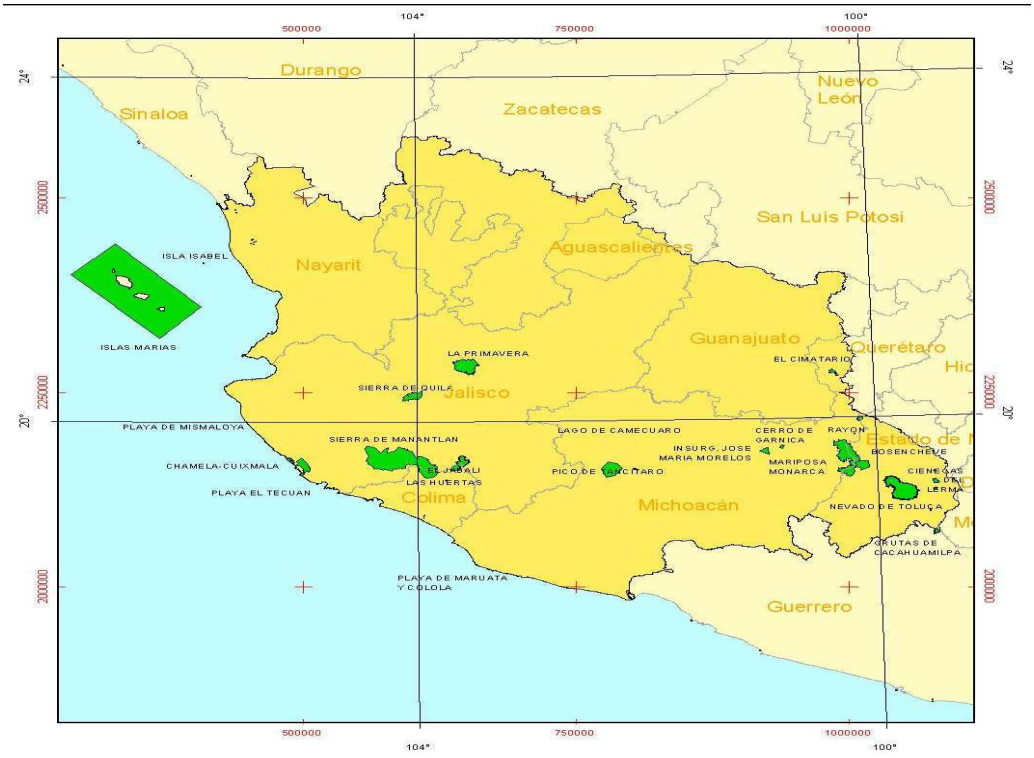


Figura 4. Descripción geográfica especifica del área de liberación de maíz genéticamente modificado (A-F).

La estación Pioneer Puerto Vallarta, ubicada en el estado de Nayarit se encuentra localizada en una Latitud 20° 47´ Norte, longitud 105°14´ oeste y con una altura de 38 metros sobre el nivel del mar, está dentro del municipio de Bahía Banderas el cual colinda al norte con el municipio de Compostela, al este con el estado de Jalisco, al sur con el Océano Pacífico y el estado de Jalisco y al oeste con el Océano Pacífico.

Orografía: poco más del 70% de su territorio es terreno cerril tipo semimontañoso que da origen a la Sierra Madre del Sur, el resto es llanura costera, lomera y pequeños valles en el altiplano. Las elevaciones principales son: La sierra de Vallejo, con una altitud de 1420 msnm, y los cerros Las Canoas (740 msnm), El Cora (720 msnm), La Bandera (600 msnm), Carboneras (150 msnm) y El Caloso (500 msnm). La cabecera municipal tiene una altura sobre el nivel del mar de 60 metros.

Hidrografía: Se cuenta con diversas ríos, como son: La Cucaracha, La Palapa, Galván, Las Truchas, Las Mesas, El Indio, La Peñita, Hustitán, La Quebrada, Charco Hondo, Calabazas, Las Ánimas, Carricitos, Bucerías y Ameca, el cual destaca por sus 1,250 millones de metros cúbicos de escurrimiento. Cuenta también con la laguna El Quelele.

Clima: Es cálido subhúmedo, con lluvias en verano de junio a septiembre y la precipitación media anual es de 1,159.2 mm. La temperatura media anual oscila entre los 23.1 ºC y 27.8 ºC. El 90% de los días del año son soleados.

Textura de terrenos. La textura del suelo dentro del NRSP tiene una gran variedad de texturas como se muestra en la Figura 16, lo que afirma que se lleva un control y análisis sobre los terrenos que en son utilizados para la siembra de nuestro materiales.

Características y Uso del Suelo: en las zonas de liberación predominan los migajones rojos, cafés, rojizos y amarillos del grupo laterítico, existiendo en menor proporción los de insitos de montaña con vegetación raquítica. Conforme la altura disminuye los suelos cambian a los de tipo chusmet y a los negros o chumazeros. Bahía de Banderas tiene una extraordinaria potencialidad económica por su vocación agropecuaria y turística. De su suelo el 21% se dedica al uso agrícola, 12% al ganadero, 42% al forestal ganadero y el 25% a otro tipo de usos.

Velocidad del viento y ppma: se cuanta con una estación metereológica llamada Vantage Pro Plus, que con la ayuda de un software de la marca Davis llamado Wheather link se mantiene una constante observación de éstas variables, por otro lado también contamos con instrumentos en la estación experimental NRSP como es el pluviómetro para la medición de la presión pluvial.

Referencias:

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Información Geográfica. Mapas de Climas. Nayarit. http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/nay/clim.cfm?c=444&e=18
Enciclopedia de los Municipios de México. Estado de Nayarit. Bahía de Banderas. http://www.e-local.gob.mx/wb/ELOCALNew/enciclo_nay. Diciembre del 2010.

2.c.3 Plano de ubicación señalando las principales vías de comunicación

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

Los patrones de segregación mendeliana aunado a los análisis Southern blot muestran la estabilidad genética de la inserción a través de las generaciones [Ver inciso j) del apartado I].

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

Durante el ciclo 1998/1999 se realizó un estudio de campo en Chile para generar hojas, polen, jilote, tallo, planta completa, grano y planta total en estado de senescencia de la línea DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø3-6 y un control equivalente. Los niveles

de las proteínas *Cry1F* y *PAT* en estos tejidos fueron medidos utilizando el método de ELISA (Ensayo de Enzima de Inmunoabsorvencia Ligado) desarrollado para cada proteína. El estudio fue realizado en cuatro sitios localizados en cuatro de las más importantes zonas maiceras de Chile. La localización de los experimentos fue cerca de Buin, Viluco, Graneros y Nancagua. Estas cuatro localidades se pueden comparar con localidades de Estados Unidos donde las líneas de maíz van a ser productos comerciales.

Expresión de la proteína *Cry1F*

Las concentraciones de proteína *Cry1F* cuantificadas en ELISA fueron expresadas en pg/µg de proteína total y los resultados son resumidos en la Tabla 10. El análisis demuestra que la expresión de la proteína *Cry1F* se encuentra en niveles mediales en todas las muestras analizadas. La expresión de la proteína *Cry1F* estuvo por debajo de los límites detectables en los testigos.

Tabla 6. Resumen de los niveles de la proteína *Cry1F* determinados en tejido de plantas de la línea de maíz híbrida 1507

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

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

Expresión de la proteína *PAT*

Las expresiones de la proteína *PAT* fueron expresadas en pg/µg de proteína total y los resultados se presentan en la Tabla 11**.** Los niveles de expresión de la proteína *PAT* fueron solamente detectados en cantidades medibles en muestras de hoja. Los niveles de expresión de la proteína PAT estuvieron por debajo de los valores de detección en todas las muestras de tejidos de los testigos, sin embargo, hemos confirmado que la expresión de la proteína en todos los tejidos es expresada en cantidades suficientes para conferir tolerancia a aplicaciones totales del herbicida glufosinato.

Tabla 7. Resumen de niveles de proteína PAT medidos en tejido colectado de la línea de maíz híbrida 1507

Tejido	Media 1 *PAT* (pg/µg proteína total)	Desviación Estándar	Rangos min/max
Hoja	<LOD2	NA3	<LOD – 40.8
Polen	<LOD	NA	<LOD
Jilote	<LOD	NA	<LOD
Tallo	<LOD	NA	<LOD
Planta Total	<LOD	NA	<LOD
Grano	<LOD	NA	<LOD
Planta total Senesciendo	<LOD	NA	<LOD

[1] Los valores representan las medias de cuatro localidades de medias del análisis de cinco muestreos por localidad para hoja, polen, jilote, tallo, grano y una sola muestra por sitio para ambas muestras de plantas totales.
[2] <LOD = abajo de los niveles de detección, LOD = <20 pg/µg proteína total
[3] NA = no aplica.

c) Características del fenotipo del OGM

Las características fenotípicas del maíz 1507xNK603 son equivalentes a las de su contraparte convencional con excepción de la resistencia a lepidópteros y la tolerancia a glifosato que le confieren los genes *cry*1F, y *cp4 epsps*, respectivamente.

Gen *cry1*F

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

Gen *pat*

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

Gen CP4 *epsps*

El gen codifica para una forma tolerante a glifosato de la enzima 5-sintasa enolpyruvlyshikimate-3-fosfato (EPSPS) que fue aislado de la bacteria del suelo *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4. El glifosato se une específicamente al la enzima EPSPS y la inactiva; la enzima EPSPS participa en la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina y triptófano, y está presente en todas las plantas, bacterias y hongos. *

*AGBIOS. GM Crop Database

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

Las características fenotípicas nuevas expresadas por el maíz DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø3-6 son la resistencia a algunos insectos lepidópteros [Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*); Gusano Elotero (*Helicoverpa zeae*) y barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*)] conferida por el gen *cry*1F; y tolerancia a hebicidas con el ingrediente activo gifosato, conferida por en gen *cp4 epsps.*

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 1507xNK603. Además, los eventos que componen al maíz 1507xNK603 han sido desregulados con la previa evaluación de la APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service), la EFSA (European Food Safety Authority) y otras agencias reguladoras en diferentes países, y han sido considerados seguros para el medio ambiente y la diversidad biológica.

En la presente solicitud de liberación experimental al ambiente se hace referencia a las estrictas medidas de bioseguridad a llevar a cabo durante la liberación del maíz GM 1507xNK603, por lo que la probabilidad de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente es extremadamente baja.

Potencial de transferencia de genes.

Los eventos con tolerancia a herbicida solo pueden ser considerados como proveedores de una ventaja selectiva para las plantas de maíz GM donde y cuando se aplican herbicidas con ingrediente activo glifosato. Igualmente, la resistencia a insectos plaga para ciertos lepidópteros provee una potencial ventaja en cultivo bajo condiciones de infestación. Sin embargo, la supervivencia del maíz fuera de cultivo es significativamente limitada por una combinación de baja competitividad, ausencia de la fase de dormancia y susceptibilidad a enfermedades. Ya que las características generales del maíz GM 1507xNK603 han permanecido sin cambio, los eventos insertados para resistencia a algunos insectos lepidópteros y tolerancia a glifosato, no aparentan proveer una ventaja selectiva fuera de cultivo. Por lo que se considera improbable que individuos de este maíz GM o su progenie pueda diferir de las variedades de maíz convencional en su habilidad para sobrevivir en subsecuentes temporadas o establecer poblaciones silvestres.

a) Transferencia genética de planta a bacterias

Datos científicos actuales sugieren que la transferencia de genes de plantas GM a microorganismos bajo condiciones naturales es extremadamente rara.

Los genes *cry1F* y *CP4 epsps* están bajo el control de promotores eucarióticos con restricción, la transferencia horizontal de genes es un evento improbable en procariotas. Los genes *cry1F* y *CP4 epsps,* son componentes de las poblaciones microbianas del suelo. Tomando en cuenta el origen y naturaleza de los genes *cry1F y cp4 epsps* y la ausencia de presión selectiva en el tracto digestivo y/o en el ambiente, la probabilidad de transferencia horizontal, la posibilidad de conferir una ventaja selectiva o incremento en la aptitud en los microorganismos es muy limitada. Por esta razón es muy improbable que los genes del maíz GM pudieran transferirse y establecerse en el genoma de microorganismos en el medio ambiente de humanos y animales y el tracto digestivo animal.

b) Transferencia genética de planta a planta

Para el caso del maíz, cualquier transferencia genética vertical es limitada hacia otras plantas *Zea mays* como poblaciones silvestres sexualmente compatibles.

La tolerancia a herbicidas y resistencia a insectos proveen ventajas agronómicas en cultivo donde y cuando los herbicidas específicos son aplicados y los organismos blanco están presentes. Sin embargo, la supervivencia del maíz fuera de cultivos está principalmente limitada por una combinación de baja competitividad, ausencia de fase de dormancia y susceptibilidad a enfermedades.

Potenciales interacciones de la planta GM con organismos no blanco

Las áreas agrícolas donde se cultiva el maíz ni el maíz en sí, no son consideradas como hospederas de especies en peligro. Además, las especies en peligro tendrían que consumir el tejido de maíz *B.t*. (típicamente en estadío larvario) para ser expuestas a una potencial dosis letal. El riesgo a otras especies de insectos en peligro es poco probable que se dé debido a la especificidad de la proteína *Cry1F* para ciertas especies de lepidópteros y a la baja toxicidad mostrada por las especies no blanco.

Proteína *Cry1F*

Se llevó a cabo un estudio de 28 días para determinar los efectos crónicos de la proteína *Cry1F* en la supervivencia y reproducción de colémbolos (Halliday, 1998). Tres niveles de tratamiento de la sustancia de prueba *Cry1F* (0.63, 3.1 y 12.5 mg kg^{-1}), así como la sustancia de referencia (thiodicarb) fueron mezclados con levadura de Brewer para preparar la dieta de prueba. Los niveles de tratamiento de la proteína *Cry1F* del estudio fueron de 22 a 438 veces mayores a lo que podría ser encontrado en el campo, en base a los estimados de exposición calculados para la proteína *Cry1F* en suelo. Al final de la prueba, hubo menos del 10% de mortalidad asociada con la exposición a la sustancia de prueba con la proteína *Cry1F* o al ensayo control. La mortalidad dependiente de la dosis fue observada para la sustancia de referencia (thiodicarb) con un 100% de mortalidad an el mayor rango de 10,000 ppm. La reproducción de los colémbolos no fue significativamente diferente para ninguna de las sustancias de prueba cuando fueron comparadas con los ensayos control. El número promedio de progenie no fue significativamente diferente para ninguna de las sustancias de prueba.No se observó mortalidad ni reducción del número de progenie después de la exposición a los materiales de prueba por 28 días. Los resultados del estudio que a niveles esperado en campo de maíz, los colémbolos no fueron afectados por la exposición crónica de proteína *Cry1F*.

Se realizaron diferentes estudios en insectos benéficos para evaluar el daño en insectos no blanco. La Tabla inferior sumariza los datos generados en estudios usando proteína *Cry1F* derivada de microbios. Los niveles de efectos medidos son sustancialmente mayores que los niveles de expresión y exposición de proteína *Cry1F* en el ambiente; por lo tanto, el nivel de riesgo es insignificante.

Título del estudio	**Resultados**
Dieta de toxicidad aguda LD_{50} y/o NOEC en abejas	LD_{50} y/o NOEC ≥ 540 ng Cry1F/larva
Insectos no blanco - crisopas	LC_{50} > 480 µg *Cry1F*/g dieta
Insectos no blanco - himenópteros parásitos	LC_{50} > 320 µg *Cry1F*/g dieta
Insectos no blanco - mariquitas	LC_{50} > 480 µg *Cry1F*/g dieta

La utilidad de maíz expresando la proteína *Cry1F* surge de su toxicidad a plagas de lepidópteros de importancia económica en la producción de maíz (p. ej. gusano cogollero). Debido a que la δ-endotoxina es activa contra algunas especies de lepidópteros, se realiza un análisis de riesgo para especies de lepidópteros no blanco y en peligro. El análisis de riesgo en mariposas monarcas es un predictor de riesgo consevador para especies de lepidópteros en peligro, ya que la especificidad rengo-hospedero para especies en peligro está más allá de los límites potenciales de exposición. Por lo tanto, las conclusiones del riesgo en relación las mariposas monarca pueden ser extrapoladas a un amplio espectro de especies de lepidópteros en peligro que pudieran ocurrir dentro de la proximidad a campos de producción de maíz *Cry1F*.

Potencial como maleza

Las características de las malezas han sido generalmente descritas por Baker (1974) como (1) la habilidad de la semilla de maleza para germinar en diferentes ambientes; (2) germinación discontinua y amplia longevidad de la semilla; (3) rápido desarrollo de la fase vegetativa a la de floración; (4) producción continua de semilla, tanto como las condiciones de crecimiento lo permitan; (5) autocompatibilidad; (6) polinización cruzada mediante visitantes no especializados o polinización por el viento; (7) alta dispersión de semillas en ambientes favorables y producción de semillas en un amplio rango de ambientes; (8) adaptabilidad a cortas o largas distancias de dispersión; (9) producción vegetativa o regeneración de fragmentos y fragilidad (difícilmente removibles del suelo); y (10) habilidad para competir interespecíficamente por medios especializados.

El maíz no muestra ninguna de las características de maleza antes mencionadas, además no es invasiva de ambientes naturales. Los híbridos de maíz han sido domesticados por un largo periodo de tiempo, tanto que las semillas no pueden ser diseminadas sin la intervención humana, ni puede fácilmente sobrevivir de un ciclo a otro debido a su baja dormancia. La semilla de maíz no es dormante, pero puede persistir de un ciclo a otro bajo condiciones climáticas favorables y cuando la temperatura y humedad son adecuadas para que la semilla pueda germinar. Las plantas voluntarias de maíz, son en todos los casos, fácilmente identificadas y controladas manual o químicamente.

No se espera que la introducción de construcciones genéticas y nuevos eventos, como la resistencia a algunos insectos lepidópteros y resistencia a herbicidas, confiera características de maleza al maíz. De igual forma, la característica de resistencia a herbicidas ha sido usada ampliamente en el mejoramiento de plantas como un marcador selectivo. No hay razones para esperar que la protección contra ciertos insectos lepidópteros o la resistencia a herbicidas incremente la adpatabilidad de la línea de maíz, ya que el desarrollo de la línea de maíz 1507xNK603 es equivalente al del maíz convencional.

La información referente al evento NK603 se encuentra disponible en:
CERA. (2010). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database

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

Todas las características de la línea de maíz analizada, sin considerar las tratadas con herbicida, fueron similares al maíz control. No hubo diferencias estadísticamente significativas ($P<0.05$) para ninguna de las características agronómicas registradas en el maíz 1507xNK603 y el maíz control.

Tabla 8. Resumen de germinación, tiempo de liberación de polen, tiempo de floración, acame de tallo, acame de raíz, altura de planta y altura de mazorca.

Entry	Germination/ Early Population[1]	GDU[8] 50% Pollen Shed[2]	GDU[8] 50% Silking[3]	Stalk Lodging[4] (%)	Root Lodging[5] (%)	Plant Height[6] (cm)	Ear Height[7] (cm)
Buin, Chile (BU01)							
01	49	1223	1204	0	0	321	136
02	49	1223	1216	0	0	312	126
03	52	1223	1217	0	0	319	130
91	48	1243	1217	0	0	316	146
Buin, Chile (BU02)							
01	52	1238	1251	0	0	316	139
02	52	1244	1244	0	0	312	129
03	46	1238	1238	0	0	308	126
91	48	1270	1244	0	0	314	140
Linderos, Chile (LI01)							
01	50	1244	1244	0	0	287	117
02	50	1208	1237	0	0	288	107
03	48	1223	1245	0	0	282	108
91	47	1245	1245	0	0	283	125
Linderos, Chile (LI02)							
01	49	1270	1270	0	0	301	131
02	48	1251	1251	0	0	285	110
03	49	1264	1270	0	0	289	113
91	45	1288	1288	0	0	288	134
Viluco, Chile (VI01)							
01	54	1164	1140	0	0	309	131
02	52	1158	1164	0	0	313	129
03	53	1164	1157	0	0	308	128
91	50	1170	1164	0	0	310	141
Viluco, Chile (VI02)							
01	52	1135	1123	0	0	330	137
02	52	1135	1135	0	0	319	129
03	52	1141	1129	0	0	327	132
91	53	1135	1121	0	0	336	154
Average							
01	51	1212	1205	0	0	311	132
02	51	1203	1208	0	0	305	122
03	50	1209	1209	0	0	305	123
91	49	1225	1213	0	0	308	140

[1] Número de plantas emergidas por 60 semillas plantadas
[2] Número de unidades calor acumuladas cuando aproximadamente el 50% de las plantas estaba en etapa de liberación de polen.
[3] Número de unidades calor acumuladas cuando aproximadamente el 50% de las plantas estaba en etapa de floración
[4] Porcentaje de plantas quebradas debajo de la mazorca primaria
[5] Porcentaje de plantas inclinadas ≥ 30° en el primer medio metro de debajo de la superficie del suelo
[6] Medida de la superficie del suelo a la punta de la espiga
[7] Medida de la superficie del suelo a la base de la mazorca
[8] GDU: Unidades Grados Crecimiento

Tabla 9. Resumen de población final, "Stay Green", Incidencia de enfermedades y quedad de grano.

Entry	Final Population[1]	Stay Green[2]	Disease Incidence[3]	Insect Damage[4]	Grain Moisture[5]
Buin, Chile (BU01)					
01	49	6	9	9	28.5
02	48	7	9	9	29.2
03	50	6	9	9	29.1
91	48	7	9	9	29.1
Buin, Chile (BU02)					
01	52	7	9	9	27.9
02	49	7	9	9	26.6
03	36	8	9	9	27.7
91	47	8	9	9	27.5
Linderos, Chile (LI01)					
01	49	4	9	9	29.6
02	50	5	9	9	27.6
03	47	4	9	9	26.8
91	46	4	9	9	25.1
Linderos, Chile (LI02)					
01	49	6	9	9	27.2
02	47	5	9	9	26.4
03	41	6	9	9	26.7
91	44	6	9	9	26.8
Viluco, Chile (VI01)					
01	53	5	9	9	27.7
02	51	5	9	9	28.9
03	51	5	9	9	29.2
91	49	6	9	9	28.2
Viluco, Chile (VI02)					
01	52	6	9	8	26.8
02	50	7	9	8	26.7
03	50	7	9	7	25.8
91	53	7	9	7	25.6
Average					
01	51	6	9	9	28.0
02	49	6	9	9	27.6
03	46	6	9	9	27.6
91	48	6	9	9	27.1

[1] Número total de plantas viables (por parcela) a etapa de madurez
[2] Plantas sanas a etapa de madurez evaluadas en una escala del 1 al 9 donde 1 es completamente muerta y 9 es muy verde.
[3] Nivel de resistencia a enfermedades, donde 9 es alta resistencia o enfermedades no visibles
[4] Nivel de resistencia a insectos en etapa de madurez, evaluando en una escala del 1 al 9 donde 1 es poca reistencia y 9 alta resistencia o sin daño.
[5] % de de agua en grano a madurez de cosecha

Ver Anexo IV: Agronomic Characteristics, Quantitative ELISA and Nutrient Composition Analisis of a Maize Line Containing Events DAS-Ø15Ø7 and MON-ØØ6Ø3-6 Derived from Conventional Crossings: Chile Locations.

EVENTO MON-ØØ6Ø3-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-ØØ6Ø3-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo VIII.

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

La presente solicitud hace referencia a las estrictas medidas de bioseguridad a llevar a cabo durante la liberación del maíz GM 1507xNK603, aunadas a las medidas que las autoridades competentes establezcan, por lo que la probabilidad de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente, es muy baja. Además, los eventos 1507 y NK603, han sido ampliamente evaluados por la APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service), el panel científico de la EFSA (European Food Safety Authority) y otras agencias reguladoras en diferentes países del mundo, y han sido considerados seguros para el medio ambiente y la diversidad biológica.

Los resultados hasta ahora observados en los experimentos establecidos en México y en otros países no han mostrado efectos no esperados en el desarrollo del maíz 1507xNK603, por lo que la experimentación propuesta en la presente solicitud, pretende entre sus diversos objetivos obtener información que proporcione a las Agencias Reguladoras indicativos en relación a los posibles efectos no esperados, así como la evaluación, estimación, manejo y prevención del maíz GM 1507xNK603.

Los datos que se presentan en la solicitud muestran un bajo riesgo a la salud humana y al ambiente. Además no ha habido evidencia de susceptibilidad incrementada a plagas de insectos o enfermedades en el maíz GM cuando es comparado con híbridos de maíz convencional.

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.

Método de detección en laboratorio:

El método de identificación reconocido por Semillas y Agroproductos Monsanto S. A. de C. V. para el evento NK603 se encuentra en el compendio de información que dicha empresa ha presentado a las secretarías competentes y al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo VIII.

En el Anexo III se encuentran los métodos de detección validados por la Joint Research Centre de la Unidad de Biotecnología y OGMs de la Comisión Europea para los eventos 1507 y NK603.

A continuación, se describe el método de detección evento-específico de cuantificación para maíz TC1507 usando PCR en tiempo real desarrollado por Pioneer Hi-Bred International – GeneScan Analytics GmbH con la validación de la Joint Research Centre de la Unidad de Biotecnología y OGMs de la Comisión Europea:

El protocolo describe un procedimiento cuantitativo PCR TaqMan® evento-específico en tiempo real para la determinación del contenido relativo de evento de ADN TC1507 para una muestra de ADN de maíz.

Para la detección específica del evento TC1507 en ADN genómico, se amplifica un fragmento de 58 pb de la región de recombinación de partes de la construcción insertada en el genoma de la planta, mediante dos cebadores específicos. Los productos de PCR se miden en cada ciclo (en tiempo real) por medio de una sonda oligonucleótido blanco-específico marcada con dos colorantes fluorescentes: FAM como marcador de extremo 5' y TAMRA como colorante marcado del extremo 3'.

Para la cuantificación relativa del evento TC1507 se usa un sistema de referencia maíz-específico que amplifica un fragmento de gen de 79 pb del grupo de alta movilidad (HMG), usando primers y una sonda gen-específico HMG marcados con los tintes fluorescentes, FAM y TAMRA.

El método fue optimizado para harina de maíz con el evento TC1507 mezclado con maíz convencional. La reproducibilidad y exactitud del método fue probado a través de ensayos colaborativos usando muestras con diferentes contenidos de OMG. El método fue validado en un ensayo colaborativo del Joint Research Centre (JRC) de la European Commission. El estudio fue realizado con 14 laboratorios.

Método de detección en campo

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

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

En la presente solicitud se hace referencia a las estrictas medidas de bioseguridad a llevar a cabo durante la liberación del maíz GM 1507xNK603, por lo que la probabilidad de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente es extremadamente baja.
La dispersión del polen está determinada por una diversidad de factores ambientales y físicos. La dirección del viento, las turbulencias y la velocidad del viento se encuentran directamente relacionadas al movimiento del polen (Jones and Brooks, 1950; Di-Giovanni and Kevan, 1991). Otros factores tales como la densidad del polen, la densidad y la viscosidad del aire, la velocidad de sedimentación del polen y el radio del polen parecen influir en el transporte y su deposición (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 19). 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).

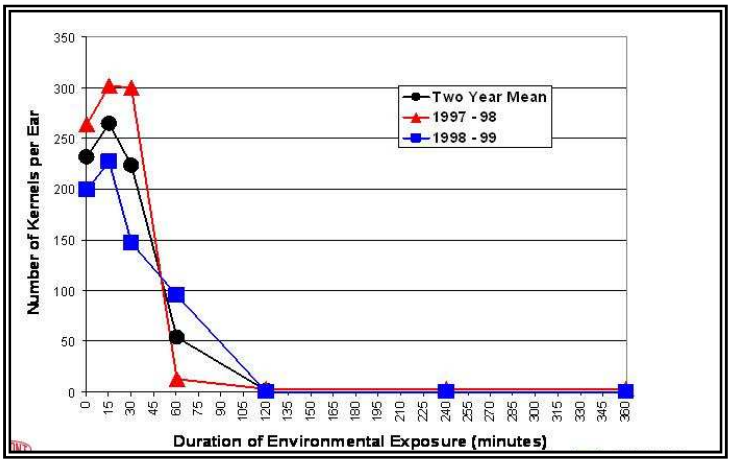


Figura 5. Pérdida de viabilidad del polen

Riesgo *et al.* (2010) realizaron un análisis a partir de numerosos estudios en campo llevados a cabo recientemente por investigadores en Estados Unidos, donde se reporta estadísticamente datos en maíz sobre fertilización cruzada entre maíz convencional y maíz GM. Se muestra que una distancia de aislamiento de 40 m es suficiente para reducir la fertilización cruzada bajo el rango de 0.9%; y que con una separación de >90 m, se mantienen los valores de fertilización cruzada por debajo del 0.3% con una probabilidad mayor al 90% (Tabla 14)[1].

Tabla 10. Probabilidad de fertilización-cruzada bajo un nivel (%) usando una distribución gamma.

	Cross-fertilization threshold (% of seeds)[1]			
Distance (m)	1.5% Mean (low-high bounds)	0.9% Mean (low-high bounds)	0.5% Mean (low-high bounds)	0.3% Mean (low-high bounds)
(0–10]	49.44 (46.10–52.92)	41.16 (37.80–44.62)	33.11 (29.76–36.66)	27.30 (24.06–30.64)
(10–20]	*91.19* (88.58–93.70)	70.89 (67.56–74.38)	41.41 (37.78–45.06)	21.80 (18.20–25.68)
(20–30]	*99.86* (99.54–100)	*95.62* (92.12–98.44)	66.94 (58.30–75.14)	31.19 (21.52–41.00)
(30–40]	*99.99* (99.96–100)	*99.61* (98.76–100)	*94.14* (87.70–99.44)	77.26 (63.70–91.08)
(40–50]	*99.88* (99.56–100)	*98.56* (96.10–100)	*92.07* (84.12–99.80)	79.38 (66.48–95.34)
(50–70]	*99.88* (99.28–100)	*99.11* (96.26–100)	*95.89* (87.30–99.90)	88.05 (74.54–96.86)
(70–90]	*99.98* (99.90–100)	*99.58* (98.68–100)	*96.08* (91.56–99.94)	86.81 (77.48–97.66)
>90	*100* (100–100)	*99.96* (99.86–100)	*98.58* (97.30–99.54)	*90.76* (86.22–94.76)

[1]Numbers in italics indicate a scenario where separation distance is sufficient to reduce admixture in maize cultivation below different threshold levels (1.5%, 0.9%, 0.5% and 0.3%). Square brackets denote that the upper limit is included in the interval.

Los resultados del ensayo de dispersión de polen llevado a cabo el 2009 en Huatabampo, Sonora con maíces transgénicos (Reporte Final del Permisos B00.04.03.02.01.-8722, B00.04.03.02.01.-8723 y B00.04.03.02.01.-8724), mostraron que la mayor captura de polen se presenta entre 1 m y 50 m de distancia de la fuente emisora de polen, y que a partir de los 200 m a los 250 m de distancia no se detectan granos de polen.

Ver inciso f) del apartado III

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

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

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

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

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

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

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

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

Kiesselbach, T.A. 1999. The structure and reproduction of corn. 50th Anniversary Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

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

Ortíz-García, S., Ezcurra, E. B., Shoel, B., Acevedo, F., Soberón, J., and Snow, A. 2005. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico (2003-2004). PNAS 102:12338-12343

Paterniani, E. and A.C. Stort. 1974. Effective maize pollen dispersal in the field. Euphytica 23:129-134.

[1] Riesgo, L. *et al. (2010)* Distances hended to limit cross-fertilization between GM and convencional maize in Europe. Nature Biotechnology. 28 , 8.

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.

IV. Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad y de bioseguridad a llevar a cabo.

a) Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad:

IV.a.1 Plan de monitoreo detallado

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

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

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.

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

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

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 y,

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

Método de detección en campo

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

Método de detección en laboratorio

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

b) Medidas y procedimientos de bioseguridad

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

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

Empaque de la semilla

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

Etiquetado

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

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

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

Figura 6. Ejemplo de etiqueta para los contenedores de semilla GM.

Almacenamiento temporal

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

CONTIENE MATERIAL VEGETAL TRANSGÉNICO

ACCESO RESTRINGIDO AL PERSONAL DESIGNADO POR EL RESPONSIBLE TÉCNICO

NOMBRE DEL RESPONSABLE TÉCNICO: M. C. JUAN ENRIQUE CAMPOS WHITE
TELÉFONO: 3292910090

EN CASO DE EMERGENCIA O DAÑO CONTACTE INMEDIATAMENTE AL RESPONSABLE TÉCNICO

Figura 7.Datos para señalización del sitio de almacenamiento temporal de semilla GM.

Revisar **Anexo IX.** Proceso de importación de semilla llevado en la estación experimental Puerto Vallarta (NRSP).

Disposición final

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

Acciones correctivas.

Liberación accidental durante el transporte.

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

Liberación accidental durante la siembra.

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

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.

Se delimitara área para evitar el acceso a personal ajeno y/o no autorizado como lo muestra la figura 24**.**

Figura 8. Ejemplo de Seguridad en entrada de los campos de la Estacion Experimental.

Ver el siguiente punto.

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

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

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

Se propone aislamiento de **200 metros** de maíz convencional o aislamiento temporal con 15 días de desfase, así mismo, se propone lo que son barreras físicas por otros cultivos (ejemplo, Sorgo) y madurez Relativa del Cultivo.

a) Aislamiento espacial

Los ensayos a campo con organismos vegetales genéticamente modificados pueden aislarse reproductivamente de otras plantas de la misma especie o de parientes sexualmente compatibles separándolos con una distancia mínima. En esta fase experimental de siembra de maíz genéticamente modificado, se propone como medida de bioseguridad para el no desespigue de las parcelas el aislamiento por distancia, esto con fundamento en estudios de flujo de polen realizados en México con híbridos convencionales no transgénicos, los cuales han demostrado que el aislamiento espacial para lotes contiguos de maíz se puede obtener a una distancia de la fuente de polen de aproximadamente 200 metros (Luna *et a.,* 2001). Los experimentos aquí descritos se sembrarán utilizando como medida de bioseguridad el aislamiento por distancia de 200 metros con respecto a cualquier otro maíz en base a artículos y sustentos que argumentan que el flujo genético entre maíz genéticamente modificado y convencional ocurre en los primeros 50 m. A partir de la fuente polen, además se reitera que el viento deposita en mayor porcentaje a 25 -50 mts de la fuente y no es considerable que se intercambie polen más allá de lo normal sobre culauqier otro tipo de maíz incluyendo materiales silvestres (Colombiano Agropecuario, ICA Colombia, en Córdoba, 2006); por otro lado se tiene la base datos respecto a recomendacioens establecidas por la CONABIO (S.G.P.A./DGIRA.DDT.0191.06;S.G.P.A./DGIRA.DDT.0192.06;.G.P.A./DGIRA.DDT.0193.06;S.G.P.A./DGIRA.DDT.0194.06), alternativamente se manejarán fechas de siembra para obtener el aislamiento mediante desfases en la época de floración de los materiales de prueba con cuaquier material que se pudiere encontrar a sus alrededores en la mencionada distancia. Todas las plantas de la misma especie o de especies relacionadas presentes en la zona de aislamiento deben ser removidas antes de la antesis o de la formación de la semilla y tratarse de manera tal que resulten inviables.

b) Aislamiento temporal

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

Ver inciso h), numeral III.

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

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

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

Disposición final del OGM.

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

Limpieza del equipo de campo.

Antes de entrar al lugar del ensayo, el equipo utilizado para sembrar o establecer los 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. Los equipos utilizados para sembrar o establecer los ensayos o utilizados en las prácticas culturales deben ser limpiados con el fin de eliminar el traslado accidental y la liberación no intencional de material experimental. La limpieza se puede realizar manualmente, con aire comprimido o con agua a alta presión.

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

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

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

a) Descripción de la zona donde se realizó la liberación

El evento DAS-Ø15Ø7-1 se ha utilizado en numerosos ensayos de campo en los Estados Unidos desde finales de 1996. El Servicio de Salud Animal y Vegetal (APHIS, por sus siglas en inglés) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, aprobó todos los ensayos, los cuales cumplen con los estándares de rendimiento esbozados en 7 CFR 340.3(a). Así mismo, las agencias regulatorias del medio ambiente (EPA) y salud (FDA) han aprobado la comercialización de híbridos de maíz con dicho evento en los Estados Unidos. Por otro lado, la Secretaría de Salud en México ha notificado que la proteína *CRY1F* no representa ningún daño para la salud humana o animal. En la Tabla 15 se encuentran los países que han aprobado el evento apilodo DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø3-6 en maíz.

Tabla 11. Países que han liberado el evento DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø3-6.

País	Agencia	Fecha de ingreso	Fecha de aprobación
Estado Unidos de America	EPA	NA	NA
	USDA	NA	NA
	FDA	Nov 03, 2003	Notificación
Japón	MHLW Alimentación	Ago 08, 2003	Mar 02, 2004
	MAFF Pecuario	Jul 01, 2003	Sep 01, 2003
	MAFF Medio Ambiente	Ago 17, 2004	Mar 25, 2005
Cánada	Canada Salud	Jun 12, 2003	cc
	CFIA Pecuario	Jun 12, 2003	Jun 17, 2003
	CFIA Medio Ambiente	Jun 12, 2003	Jun 17, 2003
AU/NZ	FSANZ Import	Nov 06, 2003	Notification
Taiwan	DOH - Importación	Dic 28, 2004	TBD
Unión Europea	Importación	Sep 27, 2004	Oct 10,2007
	Siembra	Jun 14, 2005	2Q09
Corea	KFDA	Mar 12, 2004	Mar 24, 2004
	RDA	4Q07	4Q08
Colombia	ICA INVIMA		Mar 25, 2008 4Q08
México	DOH - Importación	Sep 24, 2004	Dic 14, 2004
Filipinas	Importación-F/F/E	Jun 17, 2005	Feb 17, 2006
	Siembra		3Q08
Sudáfrica	Importación	Jul 14, 2004	4Q08
Singapur	Importación		
Argentina	CONABIA – Medio Ambiente	Abr 28, 2004	May 28, 2008
	SENASA – F/F	Nov 01, 2004	May 28, 2008
Brasil	CTNBio- F/F/C	Regulación de stacks	
Honduras	SENASA	En trámite	

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, Forestación y Pesca; CFIA: Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos; FSANZ: Estándares Alimenticios de Australia y Nueva Zelanda;

DOH: Departamento de Salud; KFDA: Administración de Alimentos y Medicinas de Corea; RDA: Administración de Desarrollo Rural; F/F/E: Alimentación Humana/Pecuaria/Medio Ambiente; SSA: Secretaria de Salud; COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Santiarios; CONABIA: Comisión Nacional de Bioseguridad de Argentina; CTNBio: Comité Tecnico Nacional de Bioseguridad; SENASA: Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria; ICA: Instituto Colombiano Agropecuario; INVIMA: Instituto Nacional de Vigilancia Médica y Alimentos.

b) Efectos de la liberación sobre la flora y fauna

En cumplimiento del Artículo 42 Fracción III de la LBOGM, PHI México realizó el análisis de riesgo basado en la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias (NIMF) n.° 11 de la FAO (ver documento en el Anexo XV).

Ver incisos d) y f) del apartado III.

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

EVENTO DAS-Ø15Ø7-1

En el Anexo V se presenta el documento que contiene el análisis de riesgos presentado en el país de origen: Petition for determination of nonregulated status *b.t. Cry1F* insect resistant, glufosinate tolerant maize line.

EVENTO MON-ØØ6Ø3-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-ØØ6Ø3-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo VIII.

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 favorece 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), incluso hay una reducción de 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, 2005).

El evento DAS-Ø15Ø7-1 confiere protección a las tres principales plagas que atacan al maíz en nuestro país: resistencia a barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*); y Resistencia moderada de Gusano Elotero (*Helicoverpa zeae*). Además, ofrece resistencia al herbicida glufosinato de amonio, proporcionada por la tecnología Liberty Link® para control de malezas en post-emergencia.

El evento MON-ØØ6Ø3-6 incorporado al maíz le confiere tolerancia al herbicida con el ingrediente activo Glifosato, simplificando el control de las malezas al permitir su implementación en lotes donde antes, era extremadamente difícil hacerlo.

Entre las principales ventajas del maíz con el evento MON-ØØ6Ø3-6 están: la flexibilidad para definir el momento de control, la posibilidad de incrementar el área de maíz en zonas con problemas de malezas, la practicidad operativa y la posibilidad de contar con un "seguro" en el caso de escapes no previstos de alguna maleza.

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

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

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

La legislación en el país de origen (Estados Unidos de Norteamérica) no requiere carta de aprobación por la USDA para eventos que se han apilado de manera convencional o tradicional, si los eventos individuales han sido aprobados previamente. En el Anexo XII se encuentra la aprobación del evento DAS-Ø15Ø7-1.

La documentación oficial que acredita que los maíces GM DAS-Ø15Ø7-1 y MON-ØØ6Ø3-6 están desregulados en Estados Unidos, se encuentra disponible públicamente en los siguientes enlaces:

http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs2/00_13601p_com.pdf
http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs2/00_01101p_com.pdf

Se anexa (VI) copia simple de la autorización por la USDA para el evento DAS-Ø15Ø7-1.

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

Alternativas Tecnológicas para Contender con la Resistencia a algunos Insectos Lepidópteros.

Las alternativas tecnológicas al evento genéticamente modificado DAS-Ø15Ø7-1 para el control de algunos insectos lepidópteros incluyen el manejo de insecticidas, principalmente aquellos que contienen los ingredientes activos de las familias de los organofosforados, carbamatos y piretroides.

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

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 casí 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.

<u>Alternativas Tecnológicas para Contender con la Tolerancia al Herbicida Glifosato</u>

La alternativa tecnológica para contender con la tolerancia al herbicida con el ingrediente activo glifosato que provee el evento MON-ØØ6Ø3-6 corresponde a la aplicación de herbicidas de manera convencional, por ejemplo el herbicida con el ingrediente activo glifosato.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

La COFEPRIS emitió el 14 de diciembre del 2004 el documento aprobatorio para maíz con los eventos apilados DAS-Ø15Ø7-1 y MON-ØØ6Ø3-6 con número de folio COFEPRIS/CEMAR/04430322193/04 (ver Anexo VI).

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 movientos de importación de la semilla así como los requisitos regulatorios en conjunto suman ese periodo.

ANEXO I.

OPINION OF THE SCIENTIFIC PANEL ON GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS. EFSA.

ANEXO III.

MÉTODOS DE DETECCIÓN PARA EL EVENTO DAS-Ø15Ø7-1 y MON-ØØ6Ø3-6.

ANEXO V.

ANÁLISIS DE RIESGO
PETITON FOR DETERMINATION OF NONREGULATED STATUS *B.T. CRY1F* INSECT RESISTANT, GLUFOSINATE TOLERANT MAIZE LINE

ANEXO VI.

OFICIO DE AUTORIZACIÓN DE COFEPRIS PARA EL EVENTO NK603

ANEXO XII.

CARTA DE APROBACIÓN DE LA USDA PARA EL EVENTO 1507

ANEXO XIII.

MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS.
MANEJO DEL RIESGO

ANEXO XIV.

PROCESO DE IMPORTACIÓN DE SEMILLA LLEVADO EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE PUERTO VALLARTA (NRSP).

ANEXO XVII.

PAGO POR LA EVALUACIÓN DE LA SOLICITUD DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE DEL EVENTO DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6