

MONSANTO COMERCIAL S.A. DE C.V.

**SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN
AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL**

**ALGODÓN SOLUCIÓN FAENA FLEX®
(EVENTO MON-88913-8)**

10/15/2012

REGIÓN DE TAMAULIPAS SUR - CICLO AGRÍCOLA PRIMAVERA - VERANO (PV) 2013.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

CONTENIDO

Art. 5° RLBOGM.....	8
I. NOMBRE, DENOMINACIÓN O RAZÓN SOCIAL DEL PROMOVENTE Y, EN SU CASO, NOMBRE DEL REPRESENTANTE LEGAL;.....	8
II. DOMICILIO PARA OÍR Y RECIBIR NOTIFICACIONES, ASÍ COMO EL NOMBRE DE LA PERSONA O PERSONAS AUTORIZADAS PARA RECIBIRLAS;.....	8
III. DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO PARA RECIBIR NOTIFICACIONES, EN CASO DE QUE EL PROMOVENTE DESEE SER NOTIFICADO POR ESTE MEDIO;.....	9
IV. MODALIDAD DE LA LIBERACIÓN SOLICITADA Y LAS RAZONES QUE DAN MOTIVO A LA PETICIÓN;.....	9
V. SEÑALAR EL ÓRGANO DE LA SECRETARÍA COMPETENTE, AL QUE SE DIRIGE LA SOLICITUD;.....	10
VI. LUGAR Y FECHA, Y.....	10
VII. FIRMA DEL INTERESADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL, O EN SU CASO, HUELLA DIGITAL.....	10
ART. 16 RLBOGM.....	11
I. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR.....	11
I.a. Identificador único del evento de transformación de organismos internacionales de los que México se parte, cuando exista.....	13
I.b. Especies relacionadas con el OGM y distribución de éstas en México.....	14
Uso.....	14
I.c. Existencia de especies sexualmente compatibles.....	18
I.d. Hábitats de persistencia o proliferación.....	23
I.e. Descripción taxonómica del organismo receptor y donador.....	25
I.f. País o localidad donde el OGM fue colectado (USA).....	26
I.g. Referencia documental sobre origen y diversificación del organismo receptor.....	26
I.h. Secuencia génica del evento de transformación (tamaño del fragmento, sitio de inserción y oligonucleótidos).....	27
I.i. Descripción de las secuencias flanqueantes, número de copias insertadas, expresión de los mensajeros.....	32
SECUENCIAS FLANQUEANTES.....	32

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

NÚMERO DE COPIAS INSERTADAS	33
EXPRESIÓN	33
I.j. Mapa de la construcción genética, tipo de herencia de los caracteres, expresión de las proteínas y su localización.....	34
MAPA DE LA CONSTRUCCIÓN GENÉTICA	34
TIPO DE HERENCIA DE LOS CARACTERES.....	35
EXPRESIÓN DEL MATERIAL INSERTADO	36
LOCALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS INTRODUCIDAS	37
I.k. Descripción del método de transformación	37
I.l. 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 efectos no esperados	38
I.m. Secuencia de aminoácidos y de las proteínas novedosas expresadas, tamaño del producto del gen, expresión de copias múltiples	39
I.n. Rutas metabólicas involucradas en la expresión del transgen y sus cambios.....	42
EPSPS	42
I.o. Productos de degradación de la proteína codificada por el transgén en subproductos	43
I.p. Secuencia nucleotídica de las secuencias reguladoras (promotores, terminadores y otras), descripción, número de copias insertadas, pertenencia de estas secuencias a la especie receptora, inclusión de secuencias reguladoras homólogas a la especie receptora .	48
I.q. Patogenicidad o virulencia de los organismos receptores y donadores.....	49
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> cepa CP4	49
I.r. Genes de selección utilizados durante el desarrollo del OGM y el fenotipo que confiere estos genes de selección, incluyendo el mecanismo de acción de estos genes	50
I.s. Número de generaciones que mostraron estabilidad en la herencia del transgén	51
I.t. Referencia bibliográfica sobre los datos presentados	53
II. IDENTIFICACIÓN DE LA ZONA DONDE SE PRETENDA LIBERAR EL OGM.....	58
II.a. Superficie total del polígono o polígonos donde se realizará la liberación	58
II.b. Ubicación del polígono o polígonos donde se realizará la liberación	62
II.c. Descripción de los polígonos donde se realizará la liberación y de las zonas vecinas según características de diseminación.....	69

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

III. IDENTIFICACIÓN DE LOS POSIBLES RIESGOS QUE LA LIBERACIÓN DE LOS OGM PUDIERA GENERAR AL MEDIO AMBIENTE Y A LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA	78
III.a. Estabilidad de la modificación genética del OGM.....	78
III.b. Expresión del gen introducido, incluyendo niveles de expresión de la proteína en diversos tejidos, así como los resultados que lo demuestren.....	80
III.c. Características del fenotipo del OGM	81
III.d. identificación de cualquier característica física y fenotípica nueva relacionada con el OGM que pueda tener efectos adversos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente receptor del OGM.....	81
III.e. Comparación de la expresión fenotípica del OGM respecto del organismo receptor, la cual incluya, ciclo biológico y cambios en la morfología básica	82
III.f. Declaración sobre la existencia de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente que puedan derivar de la liberación del OGM.....	83
Inocuidad de la proteína introducida CP4 EPSPS.....	84
Potencial como maleza	85
Potencial de flujo génico	86
III.g. Descripción de uno o más métodos de identificación, niveles de sensibilidad y reproducibilidad	88
III.h. Existencia potencial de flujo génico del OGM a especies relacionadas.....	88
Potencial de flujo génico	88
III.i. Bibliografía reciente de referencia a los datos presentados.....	90
IV. MEDIDAS Y PROCEDIMIENTOS DE MONITOREO DE LA ACTIVIDAD Y DE BIOSEGURIDAD	92
IV.a. Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad.....	92
IV.b. Medidas y procedimientos de bioseguridad	95
V. ANTECEDENTES DE LIBERACIÓN DEL OGM EN OTROS PAÍSES, CUANDO ESTO SE HAYA REALIZADO, DEBIENDO ANEXAR LA INFORMACIÓN PERTINENTE CUANDO ÉSTA SE ENCUENTRE AL ALCANCE DEL PROMOVENTE.....	103
V.a. Descripción de la zona en donde se realizó la liberación.....	103
V.b. Efectos de la liberación sobre la flora y fauna.....	106
Inocuidad de la proteína introducida CP4 EPSPS.....	106
Potencial como maleza	108

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Potencial de flujo génico	109
V.c. Estudio de los posibles riesgos de la liberación de los OGMs presentado en el país de origen (descripción de las medidas y procedimientos de monitoreo de bioseguridad)	110
V.d. En caso de que el promovente lo considere adecuado. Otros estudios o consideraciones en los que se analicen tanto la contribución del OGM a la solución de problemas ambientales, sociales, productivos o de otra índole	111
V.e. En caso de importación, copia legalizada o apostillada de las autorizaciones o documentación oficial que acredite que el OGM está permitido conforme a la legislación del país de origen	111
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	112
VII. NÚMERO DE AUTORIZACIÓN EXPEDIDA POR SALUD CUANDO EL OGM TENGA FINALIDADES DE SALUD PÚBLICA O BIORREMEDIACIÓN	113
VIII. LA PROPUESTA DE LA VIGENCIA PARA EL PERMISO Y LOS ELEMENTOS EMPLEADOS PARA DETERMINARLA	113
A. La cantidad de semilla a movilizar (importar), la ruta, las medidas de bioseguridad y condiciones de manejo durante el transporte.....	114
Ruta de movilización.....	114
Lugar de origen de la semilla:	114
Destinos intermedios:	115
Agencias aduanales.	115
Destino final:	115
B. El diseño experimental que se llevará a cabo durante la liberación en fase experimental	120

TABLAS

Tabla 1. Especies de <i>Gossypium</i> reportadas en la literatura para el Norte de México.	14
Tabla 2. Resumen de los elementos genéticos contenidos en t-DNA del plásmido PV-GHGT35 utilizado en la obtención del algodón Solución Faena Flex® (RF).	30
Tabla 3. Niveles de proteína en tejidos de RF (MON-88913-8) durante 2002 [†]	34
Tabla 4. Actividad específica de la proteína CP4 EPSPS producida en E. coli después de la digestión en fluidos gástricos simulados.	47

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Tabla 5. Prácticas agronómicas para el manejo del cultivo del algodón <i>RF</i> y convencional en la región de Tamaulipas Sur.....	59
Tabla 6. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono A de la región de Tamaulipas Sur propuesto para la liberación de algodón <i>RF</i> durante el ciclo PV-2013.	62
Tabla 7. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono B de Tamaulipas Norte incluido en la Solicitud Experimental de la región de Tamaulipas Sur para la liberación de algodón <i>RF</i> durante el ciclo PV-2013.....	63
Tabla 8. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono C de Tamaulipas Norte incluido en la Solicitud Experimental de la región de Tamaulipas Sur para la liberación de algodón <i>RF</i> durante el ciclo PV-2013.....	64
Tabla 9. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono D de Tamaulipas Norte incluido en la Solicitud Experimental de la región de Tamaulipas Sur para la liberación de algodón <i>RF</i> durante el ciclo PV-2013.....	64
Tabla 10. Permisos de liberación al ambiente correspondientes a los ciclos agrícolas en los que se ha liberado la tecnología <i>RF</i> en las regiones agrícolas del norte de México.....	104

FIGURAS

Figura 1. Mapa del plásmido vector PV-GHGT35.....	12
Figura 2. Distribución puntual de <i>Gossypium barbadense</i> L. en México. Los puntos sobre el mapa señalan los registros de colecta de <i>G. barbadense</i>	23
Figura 3. Análisis de hibridación Southern de <i>RF</i> (MON-88913-8): análisis del número de insertos y copias.....	29
Figura 4. Representación esquemática del inserto y secuencias genómicas flanqueantes en Solución Faena Flex®.....	31
Figura 5. Análisis por PCR del inserto en <i>RF</i> (MON-88913-8).....	32
Figura 6. Secuencia deducida de aminoácidos de la proteína CP4 EPSPS presente en el algodón <i>RF</i>	41
Figura 7. Secuencia de aminoácidos de la proteína <i>AAD</i> utilizada en el proceso de transformación pero no integrad al genoma del algodón <i>RF</i>	41
Figura 8. Análisis de SDS-PAGE mostrando la digestión de la CP4 EPSPS purificada de <i>E. coli</i> en fluidos gástricos simulados. Las proteínas fueron separadas por SDS-PAGE utilizando un gradiente de poliacrilamida 10 – 20% en un gel con buffer tricina (Tris-Glicina). Las proteínas se detectaron con un colorante Brilliant Blue G. Se cargaron 500 ng de la proteína CP4 EPSPS producida en <i>E. coli</i> por carril basados en concentraciones predigestión.....	46
Figura 9. Análisis de Western blot mostrando la digestión de la CP4 EPSPS purificada de <i>E. coli</i> en fluidos gástricos simulados. Las proteínas fueron separadas por SDS-PAGE utilizando un gradiente de poliacrilamida 10 – 20% en un gel con buffer Tris-Glicina. Se cargó 1 ng de la proteína CP4 EPSPS producida en <i>E. coli</i> basados en la pureza y concentraciones de predigestión.....	47

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Figura 10. Localización geográfica del Polígono A, propuesto para la liberación de la tecnología <i>RF</i> en la región de Tamaulipas Sur durante el ciclo agrícola PV-2013 en Etapa Experimental.	60
Figura 11. Localización geográfica de los Polígonos B, C y D propuestos para la liberación de la tecnología <i>RF</i> en Tamaulipas Norte en Etapa Experimental, incluidos en la solicitud experimental de la región de Tamaulipas Sur, durante el ciclo agrícola PV-2013.	60
Figura 12. Localización geográfica del Polígono de Tamaulipas Norte propuesto para la liberación en Etapa Comercial de la tecnología <i>RF</i> , durante el ciclo agrícola PV-2013.	61
Figura 13. Diferencias entre los polígonos de las tecnologías <i>B2RF</i> y <i>RF</i> en la región de Tamaulipas Norte durante el ciclo agrícola PV-2012.	61
Figura 14. Municipios comprendidos en el Polígono de liberación A, propuesto para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón <i>RF</i> en la región de Tamaulipas Sur.	65
Figura 15. Municipios comprendidos en los Polígonos de liberación B, C y D propuestos para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón <i>RF</i> en Tamaulipas Norte, parte de la Solicitud de Tamaulipas Sur.	66
Figura 16. Distritos de Desarrollo Rural comprendidos en el Polígono de liberación A, propuesto para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón <i>RF</i> en la región de Tamaulipas Sur.	66
Figura 17. Distritos de Desarrollo Rural comprendidos en los Polígonos de liberación B, C y D propuestos para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón <i>RF</i> en Tamaulipas Norte, parte de la Solicitud de Tamaulipas Sur.	67
Figura 18. Zonas agrícolas comprendidas en el Polígono de liberación A, propuesto para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón <i>RF</i> en la región de Tamaulipas Sur.	67
Figura 19. Zonas agrícolas comprendidas en los Polígonos de liberación B, C y D propuestos para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón <i>RF</i> en Tamaulipas Norte, parte de la Solicitud de Tamaulipas Sur.	68
Figura 20. El Polígono A de liberación durante la Etapa Experimental del algodón <i>RF</i> , correspondiente a Tamaulipas Sur, durante el ciclo agrícola PV-2013, no contiene Áreas Naturales Protegidas.	68
Figura 21. Los Polígonos B, C y D de liberación durante la Etapa Experimental del algodón <i>RF</i> , correspondiente a Tamaulipas Norte (incluidos en la solicitud de Tamaulipas Sur), durante el ciclo agrícola PV-2013, no contienen Áreas Naturales Protegidas.	69
Figura 22. Principales vías de comunicación de la zona de liberación en el Polígono A (región de Tamaulipas Sur).	77
Figura 23. Principales vías de comunicación de la zona de liberación en los Polígonos B, C y D (Tamaulipas Norte, incluidos en la Solicitud de Tamaulipas Sur).	77

CUADROS

Cuadro 1. Origen e historia de selección de la variedad Coker 312.	13
Cuadro 2. Cantidad de OGM (<i>RF</i>) a liberar.	59
Cuadro 3. Despepites autorizados para la región de Tamaulipas.	102

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

SOLICITUD DE PERMISO PARA LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL DEL ORGANISMO GENÉTICAMENTE MODIFICADO ALGODÓN SOLUCIÓN FAENA FLEX® (MON-88913-8) EN LAS REGIONES ALGODONERAS DE TAMAULIPAS SUR DURANTE EL CICLO AGRÍCOLA PRIMAVERA - VERANO 2013.

Art. 5° RLBOGM.

I. NOMBRE, DENOMINACIÓN O RAZÓN SOCIAL DEL PROMOVENTE Y, EN SU CASO, NOMBRE DEL REPRESENTANTE LEGAL;

Monsanto Comercial, S.A. de C.V.

Representantes legales:

Dr. Jesús Eduardo Pérez Pico.
Ing. José Javier Gándara Espinosa.
M. en C. Luis Adrián Castillo León.
Biol. Giovani Medina Palacios.
Ing. César Adrián Espinosa Mancinas.

II. DOMICILIO PARA OÍR Y RECIBIR NOTIFICACIONES, ASÍ COMO EL NOMBRE DE LA PERSONA O PERSONAS AUTORIZADAS PARA RECIBIRLAS;

Av. Prolongación Paseo de la Reforma No. 1015, Torre A, Piso 21.
Colonia Desarrollo Santa Fe.
Delegación Álvaro Obregón.
01376 México, D.F.

Monsanto Comercial, S.A. de C.V.

Personas autorizadas para recibir las notificaciones:

- a) Dr. Jesús Eduardo Pérez Pico.
- b) Ing. José Javier Gándara Espinosa.
- c) M. en C. Luis Adrián Castillo León.
- d) Biol. Giovani Medina Palacios.
- e) Ing. César Adrián Espinosa Mancinas.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

III. DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO PARA RECIBIR NOTIFICACIONES, EN CASO DE QUE EL PROMOVENTE DESEE SER NOTIFICADO POR ESTE MEDIO;

NOMBRE	CARGO	Correo electrónico
Dr. Jesús Eduardo Pérez Pico.	Director de Asuntos Regulatorios de Latinoamérica Norte	eduardo.perez.pico@monsanto.com
Ing. José Javier Gándara Espinosa.	Gerente de Asuntos Regulatorios	jose.javier.gandara@monsanto.com
M. en C. Luis Adrián Castillo León	Coordinador de Asuntos Regulatorios	luis.adrian.castillo@monsanto.com
Biol. Giovanni Medina Palacios	Coordinador de Asuntos Regulatorios	giovani.medina@monsanto.com
Ing. César Adrián Espinosa Mancinas.	Coordinador de Asuntos Regulatorios	cesar.adrian.espinosa@monsanto.com

IV. MODALIDAD DE LA LIBERACIÓN SOLICITADA Y LAS RAZONES QUE DAN MOTIVO A LA PETICIÓN;

Que por medio de la presente me dirijo a Usted para presentar, con base a los artículos 32 fracción I, 36, 42, 44, 46, 70 y 71 de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados (LBOGM), los artículos 3, 5, 6, 7, 16 y 22 del Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados (RLBOGM).

La Ley de Bioseguridad y Organismos Genéticamente Modificados contempla para los cultivos biotecnológicos las etapas de liberación experimental, piloto y comercial. Tomando como base el largo historial de cultivo, de más de 10 años, del algodón Bollgard®, Bollgard®/Solución Faena® y Solución Faena® y en la experiencia acumulada con las nuevas tecnologías Bollgard®II, Bollgard®II/Solución Faena Flex® y **Solución Faena Flex®**, introducidas desde 2004, en las regiones aldoneras del norte del país; solicitamos atentamente el obtener la aprobación en **ETAPA EXPERIMENTAL** para el algodón **SOLUCIÓN FAENA FLEX® (RF)**. Esto con el objetivo de comercializarlo en la **región de TAMAULIPAS SUR** y cumplir con las expectativas de los agricultores de adquirir un producto biotecnológico que permita un mejor control de malezas mediante la aplicación de glifosato.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Con la finalidad de soportar nuestra solicitud para el avance regulatorio de los programas de algodón **RF** se han llevado a cabo estudios de evaluación experimental agronómica, fenológica y fenotípica de la tecnología algodón **RF**, organismos no blanco, toxicidad, manejo de resistencia de malezas, beneficios ambientales y económicos en las regiones algodoneras del norte de México. Estos estudios sustentan la seguridad ambiental y los beneficios económicos que dicho evento biotecnológico representa para la producción de algodón en México.

V. SEÑALAR EL ÓRGANO DE LA SECRETARÍA COMPETENTE, AL QUE SE DIRIGE LA SOLICITUD;

Conforme al Capítulo III, artículo 10, fracciones I y II, artículo 11 y artículo 12 de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados y del Capítulo I artículo 2, fracción VII. Se dirige esta solicitud a la secretaría(as) competente(s): **SAGARPA** y **SEMARNAT** en el ámbito de sus competencias.

VI. LUGAR Y FECHA, Y

México, Distrito Federal a 12 de octubre de 2012.

VII. FIRMA DEL INTERESADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL, O EN SU CASO, HUELLA DIGITAL.

Se anexa copia de los poderes para los representantes legales. **ANEXO 1. REPRESENTANTES LEGALES MOCSA.**

ART. 16 RLBOGM

I. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR.

El algodón **Solución Faena Flex**[®] (**RF**), evento MON-88913-8, se desarrollo vía transformación con *Agrobacterium tumefaciens* de la variedad de algodón Coker 312, para insertar un constructo con doble copia del gen *cp4 epsps* que codifica la enzima CP4 EPSPS. Esta proteína le confiere la característica de tolerancia a los herbicidas no selectivos de la familia Faena[®] (glifosato). En este evento, que contiene un inserto único, las características de la inserción y de las secuencias flanqueantes están conservadas. Aparte de la tolerancia al herbicida, conferida por la inserción del evento **RF**, no hay diferencias biológicamente significativas entre el algodón **RF** y su contraparte convencional.

Para la transformación se utilizó el vector binario PV-GHGT35 (**Figura 1**), que contiene dos cassettes de expresión del gen *cp4 epsps* en tándem de 8.1 kb. A partir del borde derecho, la primera secuencia codificante está regulada por un promotor transcripcional quimérico P-FMV/TSF1, las secuencias líder L-TSF1 e intrón I-TSF1, un péptido de tránsito al cloroplasto (*ctp2*) y la secuencia terminadora de la transcripción *E9*. La segunda secuencia codificante está regulada por un promotor transcripcional quimérico P-35S/ACT8, las secuencias líder L-Act8 e intrón I-Act8 y las mismas secuencias del péptido de tránsito y terminador que las utilizadas en el primer cassette. La secuencia del gen *cp4 epsps* usada para producir **RF** es la misma que la que contiene el algodón Solución Faena[®] (**SF**) (MON-1445-2).

Existe poca probabilidad de recombinación en el inserto de **RF**, por lo tanto, también poca probabilidad de cambios en las características moleculares del inserto (número de inserto, número de copias de los genes, ausencia de secuencias adicionales e integridad del inserto individual).

El organismo receptor para la tecnología **RF** fue la variedad de algodón (*Gossypium hirsutum*) denominada Coker 312. Esta variedad se desarrolló mediante técnicas de mejoramiento convencional por la compañía Coker's Pedigreed Seed Company a partir de las variedades Coker 100 Staple x Deltapine 15, durante el periodo 1948 hasta 1971, que es cuando fue lanzada comercialmente en Estados Unidos (**Cuadro 1**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

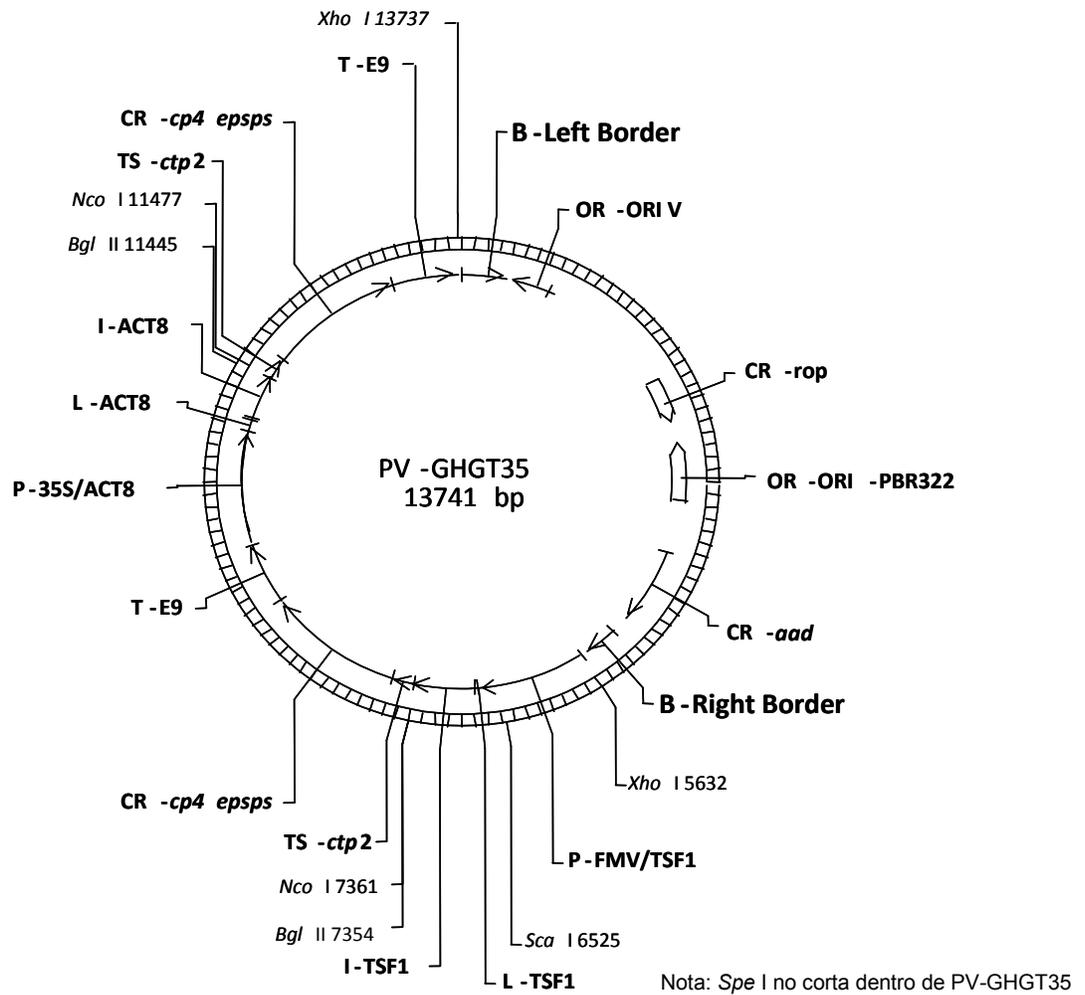


Figura 1. Mapa del plásmido vector PV-GHGT35.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Cuadro 1. Origen e historia de selección de la variedad Coker 312.

ETAPA	AÑO	ACTIVIDAD
1	1948	Cruza: Coker 100 Staple x Deltapine 15
2	1950-1959	Programa de selección de líneas a través de generaciones sucesivas para producir la línea Coker 60-111.
3	1960-1966	Selección de líneas en Coker 60-111 que produjo la línea Coker 66-115, más tarde denominada Coker 310.
4	1966-1968	Selección de líneas en Coker 66-115 para producir la línea Coker 68-312, denominada Coker 312.
5	1968-1971	El algodón Coker 68-312 se evaluó en pruebas de campo con replicas y con pruebas contra enfermedades a través del denominado cinturón algodonero de Estados Unidos. La semilla se incrementó para producir un pequeño volumen de semilla de origen durante la estación de siembra en Carolina del Sur en el periodo de 1970. La continua re selección dentro del Coker 68-312 ha dado lugar al mantenimiento de las cepas las que serán utilizadas para producir semillas de origen en los años venideros.
6	1971	Se produjo el certificado de la semilla Coker 312, bajo contrato con Canyon Gin, Lubbock, Texas, para su distribución a los agricultores para siembra en 1972 dentro de esta área.

La variedad de algodón Coker 312 fue utilizada debido a su respuesta favorable al sistema de cultivo de tejidos utilizado en el proceso de obtención de las plantas genéticamente modificadas. Varios investigadores han demostrado que el cultivar Coker 312 y otros cultivares relacionados con esta línea poseen características genéticas de buena respuesta al cultivo de tejidos (Trolinder y Goodin, 1987; Umbeck *et al.*, 1987). La característica **RF** ha sido desde entonces transferida a diversas variedades comerciales de algodón, utilizando técnicas de mejoramiento tradicionales.

I.a. Identificador único del evento de transformación de organismos internacionales de los que México se parte, cuando exista

De acuerdo a la **OCDE**, el algodón **Solución Faena Flex®**, tolerante a glifosato tiene un identificador único: **MON-88913-8**.

Nombre común: Algodón.

Nombre comercial: Algodón Solución Faena Flex®.

Nombre del evento: MON-88913-8.

Identificador único OECD: El identificador único del algodón Solución Faena Flex® es **MON-88913-8** y se encuentra disponible en el sitio de internet del Biosafety Clearing House (<http://bch.biodiv.org/>) y en el sitio de internet del Biotrack Database de la OECD (<http://www.oecd.org/>).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

I.b. Especies relacionadas con el OGM y distribución de éstas en México

De acuerdo con Fryxell (1984), Talipov *et al.* (1995), Palomo (1996) y la Red de Información de Recursos de Germoplasma (GRIN) del Servicio de Investigación Agrícola (ARS-USDA) de Estados Unidos (<http://www.ars-grin.gov>), se reportan las siguientes especies de *Gossypium* para la región Norte de México (**Tabla 1**).

En adición a la literatura consultada, se realizó una búsqueda sobre la presencia de especies del género *Gossypium* en el **Estado de Tamaulipas**, en el sistema de la Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (REMIB)¹. Los resultados de la búsqueda indican dos reportes para la especie *Gossypium hirsutum* y no se encontraron registros de especies silvestres emparentadas en estas bases de datos (http://www.conabio.gob.mx/remib/cgi-bin/remib_distribucion.cgi).

Tabla 1. Especies de *Gossypium* reportadas en la literatura para el Norte de México.

Especie	Localidad	Número de cromosomas	Año de descubrimiento	Uso
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	Regiones agrícolas	52	1763	Cultivada
<i>Gossypium thurberi</i> Tod	Sonora, Baja California Sur, Chihuahua	26	1854	Silvestre
<i>Gossypium davidsonii</i> Kellogg	Baja California Sur, Sonora	26	1873	Silvestre
<i>Gossypium armourianum</i> Kearney	Baja California Sur	26	1933	Silvestre
<i>Gossypium harknessii</i> Brandegee	Baja California Sur	26	1933	Silvestre
<i>Gossypium aridum</i> (Rose & Standl.) Skovst	Sinaloa	26	1911	Silvestre
<i>Gossypium trilobum</i> (Mocino & Sesse ex DeCandolle) Skovsted	Sinaloa	26	-	Silvestre
<i>Gossypium turneri</i> Fryxell	Sonora	26	-	Silvestre

¹ La Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (REMIB) es un sistema computarizado de información biológica (incluye bases de datos de tipo curatorial, taxonómico, ecológico, cartográfico, bibliográfico, etnobiológico, de uso y catálogos sobre recursos naturales y otros temas), basado en una organización académica interinstitucional descentralizada e internacional formada por centros de investigación y de enseñanza superior, públicos y privados, que posean tanto colecciones biológicas científicas como bancos de información. La REMIB, es una red interinstitucional que comparte información biológica. Está constituida por nodos, formados por los centros de investigación que albergan las colecciones científicas.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Colectas en el Estado de Tamaulipas.

Gossypium hirsutum. Colección: Herbario de la Universidad de Texas – Austin, EUA (LL, TEX); TEX 00074435; Fecha de colecta: 18-Septiembre-1981; colector(es): P. A. Fryxell & R. Magill; Localidad: Soto La Marina, Punta Esterillas, orilla Oeste de Laguna Morales, al Sur de La Pesca, cerca del nivel del mar; Sitio: Longitud: -97° 46' 30", Latitud: 23° 41' 0"; Hábitat: parches entremezclados de salinas, pasto alto (*Spartina spartinae*) y montículos de matorrales espinosos con algo de manglar y pasto, cerca de la orilla del mar. Tipo de preparación: Herborizado (http://www.conabio.gob.mx/remib/cgi-bin/remib_distribucion.cgi).

Gossypium hirsutum. Colección: Herbario de la Universidad de Texas – Austin, EUA (LL, TEX); TEX 00074437; Fecha de colecta: 20-Febrero-1939; Colectores: H. LeSueur; Localidad: Soto La Marina, San José de los Leones; Sitio: Longitud: -97° 47' 26.02"; Latitud: 24° 16' 43"; Tipo de preparación: Herborizado (http://www.conabio.gob.mx/remib/cgi-bin/remib_distribucion.cgi).

La especie *Gossypium hirsutum* es la principal especie de algodón cultivado y representa aproximadamente el 90% de la producción mundial de fibra y aceite de algodón. Por lo tanto, estas dos observaciones se deben muy probablemente a dos plantas voluntarias de cultivos de algodón comerciales y no a parientes silvestres. Además, estas especies se localizaron en áreas no agrícolas hace más de 20 años, por lo tanto, no existe peligro de entrecruzamiento con estos especímenes.

Bases de datos consultadas:

- Herbario XAL del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-XAL)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ie-xal.html>
- Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México (ENCB, IPN)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/encb-ipn.html>
- Banco Nacional de Germoplasma Vegetal, México (BANGEV, UACH)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/bangev-uach.html>
- Herbario de la Universidad de Texas - Austin, EUA (LL, TEX)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ll-tex.html>
- Herbario IEB del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-Bajío)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ie-bajio.html>
- Colección de Monocotiledóneas Mexicanas (UAM-I)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/uam-i.html>

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- Herbario del Instituto Nacional de Biodiversidad de Costa Rica (INBIO)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/inbio.html>
- Árboles y Arbustos Nativos para la Restauración Ecológica y Reforestación de México (IE-DF, UNAM)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ie-df-unam.html>
- Herbario Sessé y Mociño: Plantas de la Real Expedición Botánica a Nueva España (1787 - 1803) (MA)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/sesse.html>
- w3TROPICOS, Jardín Botánico de Missouri (MO)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/missouri.html>
- Herbario del CIBNOR
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/herbario_cibnor.html
- Herbario Weberbauer de la Universidad Nacional Agraria La Molina (MOL)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/lamolina.html>
- Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México (FES-I, UNAM)
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/flora_valle_tehuacan_cuicatlan.html
- Herbario de la Universidad de Arizona, EUA (ARIZ)
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/herbario_universidad_arizona.html
- Herbario del Centro de Investigación Científica de Yucatán, México (CICY)
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/cicy_yucatan.html
- Agentes Bioactivos de Plantas Desérticas de Latinoamérica (ICBG)
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ibunam_ibcg.html
- Herbario Kew del Real Jardín Botánico (RBGKEW)
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/kew.html>
- Ejemplares tipo de plantas vasculares del Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México (ENCB, IPN)
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ejemplares_tipo_plantas_vasculares.html
- Estudio Florístico de la Sierra de Pachuca, Hidalgo, México (ENCB, IPN)
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/estudio_floristico_ipn.html
- Estudio monográfico del género Echinopepon Naud. (Cucurbitaceae) en México (ENCB, IPN)
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/estudio_monografico_ipn.html

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- La flora útil de dos comunidades indígenas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán: Coxcatlán y Zapotitlán de Las Salinas, Puebla, México (FES-I, UNAM)
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/flora_utilidos_comunidades.html
- Herbario de Geo. B. Hinton, México
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/hinton.html>
- Colección de ejemplares tipo del Herbario de la Universidad de Texas – Austin, EUA (LL, TEX)
http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/coleccion_ejemplares_herbario%20tx.html
- Programa de repatriación de datos de ejemplares mexicanos
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/jbny.html>
- Colecciones de George Boole Hinton depositadas en el herbario de Kew: Familia *Leguminosae*
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/rbgk.html>

Las especies silvestres y cultivadas del género *Gossypium* pertenecen a la familia *Malvaceae*. Este género contiene 50 especies con un número cromosómico básico de 13. De las especies descritas, 45 son diploides ($2n=2x=26$) y se agrupan en siete genomas designados como **A**, **B**, **C**, **D**, **E**, **F**, y **G**. Las especies diploides con los genomas **A**, **B**, **E**, o **F** son originarias de África o Asia y se les conoce como especies del Viejo Mundo, las cuales están estrechamente relacionadas. Las especies diploides con los genomas **C** o **G** son originarias de Australia. Las especies diploides que contienen el genoma **D** son originarias del hemisferio occidental y se les conoce como especies del Nuevo Mundo. Los cromosomas en el genoma **D** son más pequeños que los cromosomas de los otros genomas (Milton y Allen, 1995).

Además de las 45 especies diploides, existen cinco especies alotetraploides ($2n=4x=52$) originarias del Nuevo Mundo, de las cuales cuatro son originarias del continente Americano y una de Hawaii. Las especies alotetraploides contienen la combinación de los genomas **AADD** y tienen 26 cromosomas largos y 26 cromosomas chicos, aunque existe algún traslape en tamaño entre los cromosomas de los genomas **A** y **D**. El origen genético de las especies alotetraploides fue demostrado experimentalmente cruzando *G. arboreum* (genoma **A**), especie diploide cultivada en la India, y *G. thurberi* (genoma **D**), especie diploide silvestre de América, y duplicando los cromosomas del híbrido estéril con colchicina. El híbrido anfidiplóide² (**AADD**, $2n=4x=52$) produjo híbridos fértiles cuando fue cruzado con especies tetraploides americanas.

² Anfidiplóide (alopoliploide): poliploide formado tras la unión de dos conjuntos de cromosomas distintos y su posterior duplicación.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Dos especies diploides y dos tetraploides de *Gossypium* son las especies cultivadas actualmente:

- *G. herbaceum* L., ($2n=2x=26$) genoma **A**, cromosomas largos,
- *G. arboreum* L., ($2n=2x=26$) genoma **A**, cromosomas largos,
- *G. hirsutum* L., ($2n=4x=52$) genoma **AD**, 26 cromosomas chicos y 26 cromosomas largos, y
- *G. barbadense* L., ($2n=4x=52$) genoma **AD**, 26 cromosomas chicos y 26 cromosomas largos.

G. hirsutum es la principal especie de algodón cultivado y representa aproximadamente el 90% de la producción mundial de fibra y aceite de algodón. El sureste de México y Guatemala son considerados como el **centro de origen y diversidad** de la especie *Gossypium hirsutum* L. Adicionalmente, 11 de las 13 especies silvestres diploides conocidas son endémicas de México. Éstas se encuentran distribuidas en la zona costera del Océano Pacífico y en los Estados de Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Tabasco y Veracruz (Palomo, 1996).

I.c. Existencia de especies sexualmente compatibles

Las especies de *Gossypium* originarias de México reportadas en la literatura son las siguientes (Fryxell, 1984; Palomo, 1996):

G. aridum (Rose y Standley) Skovsted, está distribuida en las costas de Veracruz, Puebla, Guerrero, Michoacán, Jalisco, Colima y Sinaloa. Posee hojas enteras, lo cual la coloca entre las especies más antiguas. La flor es de color rosáceo con centro de color rojo-oscuro. La cápsula (bellota o fruto) es alargada con cuatro celdas (lóculos) que contienen numerosas semillas de 4 a 6 mm de largo. La fibra que cubre la semilla es muy corta y de color café. Es la única especie diploide de México que se localiza en las costas del Océano Atlántico y cuenta con genes que confieren resistencia a las enfermedades conocidas como viruela del algodón (*Puccinia cacabata* A&H), y secadera tardía (*Verticillium dahliae* K.). Esta especie es caducifolia y florea cuando no presenta hojas, se desarrolla en pendientes y suelos delgados y pedregosos.

G. armourianum Kearney, se localiza en la costa del Golfo de Baja California Sur y en la Isla de San Marcos. Especie caducifolia; posee hojas enteras ovadas, su flor es de color amarillo con centro de color rojo y la cápsula es ovoide con tres o cuatro lóculos. Cada lóculo contiene de una a tres semillas de 8 mm de longitud. La fibra es muy corta y de color café. Es altamente resistente a la sequía y tiene brácteas caducas, las cuales son una característica deseable en algodones cultivados, ya que se tendría una cosecha más limpia y una mejor calidad. Habita en pendientes fuertes y suelos muy delgados y peligrosos.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

G. davidsonii Kellogg, se localiza en las costas del sur de Sonora y Baja California Sur y en las Islas de Revillagigedo. Esta especie es de interés desde el punto de vista evolutivo del género *Gossypium*, ya que tiene hojas enteras ovadas y es difícil de cruzar con otras especies. La evolución del género es en el sentido de pasar de formas con hojas enteras hacia formas con hojas partidas (lobuladas), por tal razón, es posible que *G. davidsonii* sea la especie más ancestral que surgió en las primeras fases de la evolución de este género (Lemeshev, 1978). La flor es de color amarillo con una pequeña mancha de color rojo en el interior, su cápsula es ovoide y generalmente, tiene cuatro lóculos. La semilla mide 6 mm de largo y tiene fibra corta y escasa. Esta especie se caracteriza por contar con una alta pubescencia en sus órganos vegetativos, lo que le da resistencia al ataque de plagas (insectos chupadores).

G. gossypoides (Ulbnich) Standley, es una especie originaria de Oaxaca y Sinaloa. Posee hojas trilobuladas con lóbulos más o menos pronunciados. La flor es de color rosa con una mancha de color rojo en el interior. La cápsula tiene tres lóculos y la semilla mide 7 mm de largo y está rodeada por fibras cortas y grisáceas. Habita en la selva baja caducifolia, en pendientes y suelos planos arcillosos.

G. harknessii Brandegees, se localiza en Baja California Sur y en la isla del Carmen. Especie caducifolia; sus hojas son enteras algo lobuladas y más anchas que largas. La flor es de color amarillo con base interior de color rojo y la cápsula es ovoide con tres a cuatro lóculos. Las semillas miden de 8 a 10 mm de largo con fibras grisáceas muy pequeñas y fuertemente adheridas. Al igual que *G. armourianum*, es muy resistente a la sequía y tiene brácteas caducas. Es una especie muy importante ya que aportó los genes de esterilidad genético-citoplásmica y los genes restauradores de la fertilidad que hicieron posible la formación de genotipos híbridos de algodón con propósitos comerciales (Meyer, 1973). Habita en pendientes fuertes y suelos muy delgados y pedregosos.

G. laxum Phillips, se encuentra en el cañón del Zopilote del Estado de Guerrero. Las hojas presentan de tres a cinco lóbulos muy pronunciados y son caducas. La flor es de color rosa, con la mitad inferior de la parte interior de color rojo-oscuro. Las cápsulas son ovoides y poseen de tres a cinco lóculos. Cada lóculo contiene varias semillas de 6 a 8 mm de largo. Tiene un alto contenido de fibra con una longitud de 6 a 8 mm. La característica de hoja caduca es muy importante ya que se puede incorporar en las variedades cultivadas para evitar el uso de defoliantes y levantar una cosecha más limpia y de mejor calidad (libre de residuos de hojas). Habita en las selvas bajas caducifolias, en pendientes con suelos delgados, arenosos, pedregosos y pobres.

G. lobatum Gentry, se localiza en el Estado de Michoacán. Son árboles; posee hojas tri- o pentalobuladas y más anchas que largas. La flor es de color púrpura claro y con un color morado fuerte en la mitad inferior del interior de la misma. Las cápsulas tienen tres lóculos. Cada lóculo contiene varias semillas muy pubescentes, la fibra es muy corta y de color blanco o

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

café claro. Al igual que *G. laxum*, cuenta con hojas caducas. Habita en las selvas bajas caducifolias, en lugares secos con pendientes y suelos pedregosos y delgados.

G. thurberi Todaro, se encuentra en Arizona, en el norte de la Península de Baja California Sur, Sonora y oeste de Chihuahua. Son plantas con altura hasta de 2.5 m; la hoja es glabra y presenta de tres a cinco lóbulos angostos y largos, bien definidos. La flor es de color crema o ligeramente amarilla, con una base interior de color rojo o sin él. La cápsula es glabra de forma semirredonda a oblonga con tres lóculos. Cada lóculo contiene de seis a ocho semillas con una longitud de 3 a 4 mm y casi glabras. Esta especie soporta temperaturas de -7°C, característica deseable en las formas cultivadas para conferirles resistencia a bajas temperaturas. Al cruzarla con variedades cultivadas, incrementa la resistencia de la fibra.

G. trilobum (Mocino y Sessé) Skovsted, se localiza en Michoacán, Morelos, Puebla y Sinaloa. Posee hojas con tres lóbulos bien definidos en las inflorescencias. La flor es ligeramente amarilla con el centro de color rojo. La cápsula es glabra con tres (raramente dos) lóculos y de forma oblonga. Cada lóculo contiene de ocho a 10 semillas, cuya longitud es de 3 a 4 mm. Las pubescencias de la semilla son muy pequeñas y ligeramente amarillentas.

G. turneri Fryxell, se localiza en la costa de Sonora, cerca de la bahía de San Carlos. La hoja es someramente trilobulada, entera, con casi el mismo largo y ancho, y caduca. La flor es de un color amarillo brillante y presenta una pequeña mancha rojiza en la base. La cápsula tiene de tres a cinco lóculos y es de forma redonda a ovoide. La semilla mide de 7 a 8 mm de longitud y está cubierta por pubescencias (fibra) muy cortas.

G. schwendimanii Fryxell y Koch, son de las últimas reportadas (1987) y se les localizó en Michoacán. Son árboles de 4 a 5 m de altura.

G. lanceolatum Todaro, se localiza en Oaxaca, Guerrero, Michoacán y Nayarit. Las hojas pueden ser de cinco, tres, o de un solo lóbulo y en todos los casos, los lóbulos son largos y estrechos. La flor es de color amarillo y con, o sin, centro de color rojo. La cápsula es de forma semirredonda y contiene tres lóculos con varias semillas. La semilla está rodeada por fibra larga de color blanco.

G. hirsutum Linneo, se encuentra en los Estados del sur y sureste de México. Las hojas son de tres o cinco lóbulos ovalados o triangulados. La flor es de color crema o ligeramente amarilla con, o sin, mancha rojiza en el centro. Las cápsulas son de forma ovalada o semirredonda y tienen de tres a cinco lóculos. Cada lóculo contiene varias semillas cubiertas con fibra larga de color blanco, café claro o café oscuro.

Para que se presente el flujo de genes de materiales cultivados a parientes silvestres vía cruzamiento se deben cumplir con ciertas condiciones: **1)** el cultivo y su pariente silvestre deben presentarse en proximidad espacial; **2)** sus períodos de fecundidad deben coincidir; **3)** se debe encontrar un vector idóneo para transportar el polen entre los dos materiales; **4)** los

materiales parentales deben ser sexualmente compatibles; **5)** el híbrido resultante del cruzamiento debe dar origen a una semilla viable; **6)** los híbridos deben ser fértiles y ecológicamente adaptados al ambiente.

Todas las especies de *Gossypium* presentan autopolinización aunque pueden presentarse ciertos cruzamientos intraespecíficos y posiblemente interespecíficos mediados por insectos. **El transporte del polen por el viento nunca se ha reportado en el género *Gossypium***, lo cual es explicado por la textura y consistencia del polen producido en antesis. **El polen de algodón es pesado** y su transporte por el viento es prácticamente nulo (Niles y Feaster, 1984). Además, **el polen de *G. hirsutum* es viable por no más de 24 horas y las flores de algodón, como las de todos los miembros de *Malvaceae*, son receptivas únicamente el día en que abren. Por lo tanto, la probabilidad de flujo genético se ve reducida considerablemente.**

Los estudios de Hutchinson (1959) citados por Palomo (1996) sobre la variabilidad existente en la especie *G. hirsutum* identifican seis razas geográficas: *latifolium*, *morrilli*, *palmeri*, *richmondi*, *yucatanense* y *punctatum*, todas ellas de día corto. Las características y distribución de estas razas son las siguientes:

G. hirsutum latifolium, es originaria del Estado de Chiapas y presenta la mayor variabilidad. Las bellotas son de tamaño mediano a grande y de forma oval o redonda. La fibra es de color blanco o café, con una longitud que oscila entre los 21.3 y los 28.7 mm. De esta raza se derivaron las variedades conocidas como “Acala”.

G. hirsutum morrilli, se le encuentra en Oaxaca, Puebla y Morelos. Posee bellotas de tamaño mediano a muy pequeño. Es de fibra corta, la longitud máxima es de 25 mm, de color que varía del café al blanco.

G. hirsutum palmeri, se le localiza en Oaxaca, Guerrero y Michoacán. Tiene hojas con lóbulos muy hendidos, largos y delgados, se le conoce comúnmente como mano de chango. Su bellota es pequeña y de forma oval o redonda. La fibra es de color blanco y su longitud varía de los 7 a los 25.9 mm.

G. hirsutum richmondi, es originaria de Oaxaca y, generalmente, de bellota pequeña. Su fibra es corta, fina y de color blanco. La longitud de la fibra oscila entre los 10 y los 26.7 mm.

G. hirsutum yucatanense, es originaria de la Costa norte de Yucatán, es una planta rastrera con flor de color amarillo y fibra de color café.

G. hirsutum punctatum, se le encuentra en los Estados de Veracruz, Tabasco, Campeche, Chiapas, Yucatán y Quintana Roo. Tiene bellotas de redondas a ovals y de diferente tamaño. Poseen fibra larga, de color café ó blanco. La longitud de la fibra varía de los 24 mm a los 29.2 mm.

En un estudio más reciente (*Ulloa et al., 2006*) encontró que, con una excepción, las razas de *G. hirsutum* mencionadas anteriormente, no se cultivan en México en la actualidad y que su abundancia y, por lo tanto, su conservación *in situ* está muy limitada a plantas que crecen ocasionalmente en áreas perturbadas, y como plantas de jardín, mantenidas sólo por curiosidad por algunos habitantes de áreas rurales. Durante las expediciones realizadas en los Estados de México, Morelos, Puebla, Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Colima, Jalisco y Nayarit, se localizaron siete especies de algodón silvestre: *G. aridum*, *G. barbadense*, *G. gossypioides*, *G. hirsutum*, *G. laxum*, *G. lobatum* y *G. schwendimanii*. La conservación *in situ* de algunas de estas especies también se encuentra seriamente amenazada por las actividades humanas.

Se pueden hacer algunas generalizaciones respecto a las especies del género *Gossypium*. **1)** todas las especies de *Gossypium* presentan autopolinización aunque pueden presentarse ciertos cruzamientos intraespecíficos y posiblemente interespecíficos mediados por insectos, **2)** el transporte del polen por el viento en el género *Gossypium* nunca se ha reportado, lo cual es explicado por la textura y consistencia del polen producido durante la antesis, **3)** el polen de *G. hirsutum* es viable por no más de 24 horas y, **4)** cada flor, como las todos los miembros de la familia Malvaceae, son receptivas únicamente el día en que abren.

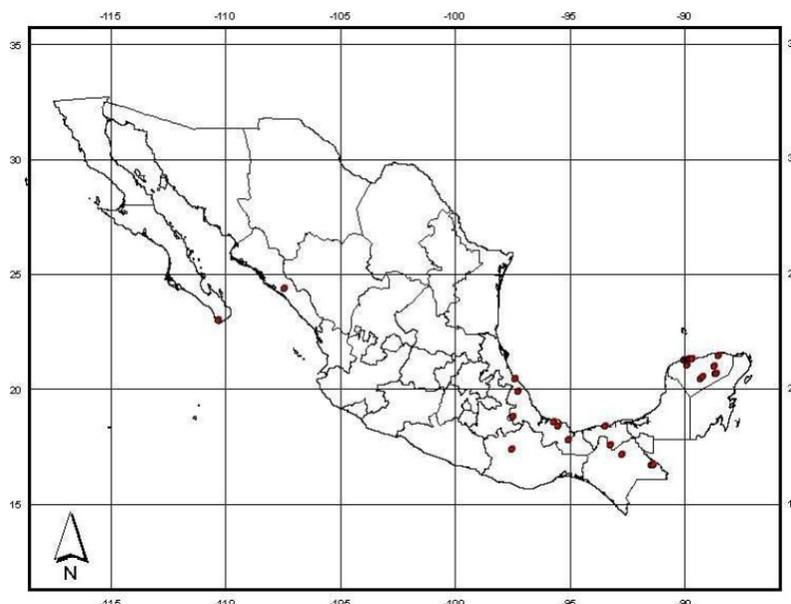
Las especies silvestres reportadas para México son diploides ($2n=2x=26$) y, por lo tanto, son sexualmente incompatibles con el algodón cultivado (*G. hirsutum*) el cual es una especie alotetraploide ($2n=4x=52$). En el caso de que se pudieran encontrar especies silvestres cercanas a las regiones agrícolas y en el improbable caso de que pudieran quedar en contacto con polen de *G. hirsutum* (tetraploide), el producto de la fecundación sería triploide. Por lo tanto, durante la metafase de la meiosis no se podría realizar el apareamiento de cromosomas homólogos, imposibilitando así la formación de un cigoto fértil por la disparidad de los sistemas genéticos. Esto constituye una barrera genética al flujo de genes entre variedades tetraploides y diploides.

A esta barrera genética se debe añadir la barrera temporal para el entrecruzamiento, ya que no se presenta coincidencia en los períodos de floración entre poblaciones silvestres y plantaciones comerciales. Por otra parte, la distribución de la especie alotetraploide *G. barbadense* se encuentra limitada principalmente al sureste de México lejos de las zonas productoras de algodón comercial en el norte de la República Mexicana (**Figura 2**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS



Fuente: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM). Proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad. Algodón *Gossypium barbadense*.

Figura 2. Distribución puntual de *Gossypium barbadense* L. en México. Los puntos sobre el mapa señalan los registros de colecta de *G. barbadense*.

I.d. Hábitats de persistencia o proliferación

Ruiz-Corral *et al.* (1999) realizaron una revisión exhaustiva sobre los requerimientos agroecológicos de cultivos de importancia económica para México. Entre otros cultivos, describen las siguientes condiciones climáticas para el desarrollo del algodón reportadas en la literatura científica:

Distribución:

El algodón es un cultivo originario de las regiones tropicales de América, África, Asia sudoriental y Australia, su distribución abarca de los 42° Latitud Norte a los 32° Latitud Sur. Este cultivo se adapta a las regiones áridas y semiáridas con climas cálidos y semicálidos. Su ciclo vegetativo dura alrededor de 135 a 180 días, dependiendo de la variedad y las condiciones ambientales. Es una planta de tipo fotosintético C₃³.

³ En las plantas C₃ el CO₂ entra en el ciclo de Calvin y se fija a la RuDP produciendo dos moléculas de PGA (3 C). Los estomas se abren durante el día.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Fotoperiodo:

El algodón es considerado como una especie de día neutro, aunque algunos cultivares prefieren el día corto.

Altitud:

0-600 m.

Requerimientos hídricos:

El algodón requiere entre 700 y 1300 mm de agua por ciclo de cultivo y se desarrolla en zonas con precipitación anual de 500-1800 mm. En condiciones de una evapotranspiración de 5 a 6 mm/día, la absorción de agua comienza a reducirse (afectando el rendimiento) cuando el agotamiento del agua del suelo excede del 65%.

Humedad ambiental:

Resiste atmósferas secas, siempre que no falte humedad en el suelo.

Temperatura:

Temperatura mínima y máxima umbrales de 12.8°C y 30°C, respectivamente. Para apertura de bellotas se requiere por lo menos una temperatura de 15°C. Rango 10-35°C, óptimo para fotosíntesis 25-30°C. La temperatura mínima para buenos rendimientos no debe bajar de 18°C y la temperatura del suelo durante germinación debe ser igual o mayor de 21°C. No responde al termoperíodo y prefiere noches cálidas. Requiere de 27 a 43°C para el desarrollo de bellotas.

Luz:

Requiere días soleados, los cuales son especialmente importantes durante la floración. La intensidad de luz óptima es 32.3-86.1 klux.

Requerimientos de suelo.

Textura de suelo: Suelos de migajón a franco-arcilloso y franco limoso, preferentemente no calcáreo.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Profundidad de suelo: Requiere suelos profundos con buen drenaje. Alrededor del 70 al 80% del total de agua absorbida por el cultivo, procede de los primeros 0.9 m de profundidad de suelo, que es donde se encuentra más del 90% del total de raíces.

Salinidad: Es tolerante tanto a la salinidad como a la alcalinidad. Las disminuciones de rendimiento para distintos valores de conductividad eléctrica son los siguientes: 0% para 7.7 mmhos/cm; 10% para 9.6 mmhos/cm; 25% para 13 mmhos/cm; 50% para 17 mmhos/cm y 100% para 27 mmhos/cm.

pH: Su rango de pH va de 4.8 a 7.5, con un óptimo de 5.6.

I.e. Descripción taxonómica del organismo receptor y donador

El algodón es un miembro de la familia **Malvaceae**, en algunas ocasiones referida como la familia de la malva. A continuación se presenta la clasificación taxonómica del algodón de acuerdo con ITIS (Integrated Taxonomic Information System <http://www.itis.usda.gov/index.html>) y NRCS (Natural Resources Conservation Service-United States Department of Agriculture, <http://plants.usda.gov>).

Reino: **Plantae** - Vegetal

Subreino: **Tracheobionta** – Plantas vasculares

Superdivisión: **Spermatophyta** – Plantas con semillas

División: **Magnoliophyta** – Plantas con flores

Clase: **Magnoliopsida** – Dicotiledóneas

Subclase: **Dilleniidae**

Orden: **Malvales**

Familia: **Malvaceae**

Género: **Gossypium L.** – algodón cultivado

Especie: **Gossypium hirsutum L.** – algodón cultivado

Variedad: **Gossypium hirsutum L. var. hirsutum** – algodón cultivado

Variedad comercial: Coker 312.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Se considera que los algodones tetraploides, incluyendo *G. barbadense* y *G. hirsutum*, evolucionaron separadamente en las Américas; no obstante, no existen barreras genéticas para la hibridación intraespecífica de las especies tetraploides de *Gossypium*, es decir, pueden cruzarse con plantas tetraploides de su misma especie (*hirsutum* y *barbadense*) (Percival *et al.*, 1999).

Los programas de mejoramiento del algodón toman ventaja de las características existentes en las especies y, mediante retrocruzamiento con el germoplasma parental, mantienen las características ya sea de *G. hirsutum* o *G. barbadense* o bien de la variedad de interés. Por ejemplo, las variedades de algodón Acala de California y Nuevo México, integran especies tanto de *G. hirsutum* como de *G. barbadense* en su pedigrí (Smith *et al.*, 1999), pero comúnmente son identificadas simplemente como *G. hirsutum*.

De acuerdo a algunas clasificaciones para la delimitación de las especies, *G. barbadense* y *G. hirsutum* podrían ser clasificadas como sub-especies o variantes de una misma especie y no como especies separadas (Rieger *et al.*, 1976). La identidad de los progenitores de *G. hirsutum* y de *G. barbadense* permanece de alguna manera incierta (Brubaker *et al.*, 1999), pero mantienen su clasificación como especies separadas.

I.f. País o localidad donde el OGM fue colectado (USA)

Tecnología Solución Faena Flex®

Monsanto Company
700 Chesterfield Village Parkway North
St. Louis Missouri, USA.

Semilla

Delta & Pine Land Cotton Seed Co.
Scott, Mississippi, 38772, USA.

I.g. Referencia documental sobre origen y diversificación del organismo receptor

Las especies silvestres y cultivadas del género *Gossypium* pertenecen a la familia Malvaceae. Este género contiene 50 especies con un número cromosómico básico de 13. De las especies descritas, 45 son diploides ($2n=2x=26$) y se agrupan en siete genomas designados como **A**, **B**, **C**, **D**, **E**, **F**, y **G**. Las especies diploides con los genomas **A**, **B**, **E**, o **F** son originarias de África o Asia y se les conoce como especies del Viejo Mundo, las cuales están estrechamente relacionadas. Las especies diploides con los genomas **C** o **G** son originarias de Australia. Las especies diploides que contienen el genoma **D** son originarias del hemisferio occidental y se les conoce como especies del Nuevo Mundo. Los cromosomas en el genoma **D** son más pequeños que los cromosomas de los otros genomas (Milton y Allen, 1995).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Además de las 45 especies diploides, existen cinco especies alotetraploides ($2n=4x=52$) originarias del Nuevo Mundo, de las cuales cuatro son originarias del continente Americano y una de Hawaii. Las especies alotetraploides contienen la combinación de los genomas **AADD** y tienen 26 cromosomas largos y 26 cromosomas chicos, aunque existe algún traslape en tamaño entre los cromosomas de los genomas **A** y **D**. El origen genético de las especies alotetraploides fue demostrado experimentalmente cruzando *G. arboreum* (genoma **A**), especie diploide cultivada en la India, y *G. thurberi* (genoma **D**), especie diploide silvestre de América, y duplicando los cromosomas del híbrido estéril con colchicina. El híbrido anfidiplóide⁴ (**AADD**, $2n=4x=52$) produjo híbridos fértiles cuando fue cruzado con especies tetraploides americanas.

Dos especies diploides y dos tetraploides de *Gossypium* son las especies cultivadas actualmente:

- *G. herbaceum* L., ($2n=2x=26$) genoma **A**, cromosomas largos,
- *G. arboreum* L., ($2n=2x=26$) genoma **A**, cromosomas largos,
- *G. hirsutum* L., ($2n=4x=52$) genoma **AD**, 26 cromosomas chicos y 26 cromosomas largos, y
- *G. barbadense* L., ($2n=4x=52$) genoma **AD**, 26 cromosomas chicos y 26 cromosomas largos.

G. hirsutum es la principal especie de algodón cultivado y representa aproximadamente el 90% de la producción mundial de fibra y aceite de algodón. El sureste de México y Guatemala es considerado como el centro de origen y diversidad de la especie *Gossypium hirsutum* L., la cual es la especie cultivada más importante en la actualidad. Adicionalmente, 11 de las 13 especies silvestres diploides conocidas son endémicas de México. Éstas se encuentran distribuidas en la zona costera del Océano Pacífico y en los Estados de Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Tabasco y Veracruz (Palomo, 1996).

I.h. Secuencia génica del evento de transformación (tamaño del fragmento, sitio de inserción y oligonucleótidos)

El algodón Solución Faena Flex® (**RF**), evento MON-88913-8, se desarrolló vía transformación con *Agrobacterium tumefaciens* de la variedad de algodón Coker 312, para insertar un constructo con doble copia del gen *cp4 epsps* que codifica la enzima CP4 EPSPS. Esta proteína le confiere la característica de tolerancia a los herbicidas no selectivos de la familia Faena® (glifosato). En este evento, que contiene un inserto único, las características de la inserción y de las secuencias flanqueantes están conservadas (**Carpeta Secuencias Nucleotídicas**). Aparte de tolerancia al herbicida, conferida por la inserción del evento **RF** (MON-88913-8), no hay diferencias biológicamente significativas entre el algodón **RF** y su contraparte convencional.

⁴ Anfidiplóide (alopoliploide): poliploide formado tras la unión de dos conjuntos de cromosomas distintos y su posterior duplicación.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX**[®] (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Para la transformación se utilizó el vector binario PV-GHGT35 (**Figura 1**), que contiene dos cassettes de expresión del gen *cp4 epsps* en tándem de 8.1 kb. A partir del borde derecho, la primera secuencia codificante está regulada por un promotor transcripcional quimérico P-FMV/TSF1, las secuencias líder L-TSF1 e intrón I-TSF1, un péptido de tránsito al cloroplasto (*ctp2*) y la secuencia terminadora de la transcripción *E9*. La segunda secuencia codificante está regulada por un promotor transcripcional quimérico P-35S/ACT8, las secuencias líder L-Act8 e intrón I-Act8 y las mismas secuencias del péptido de tránsito y terminador que las utilizadas en el primer cassette. La secuencia del gen *cp4 epsps* usada para producir **RF** es la misma que la que contiene el algodón Solución Faena[®] (**SF**) (MON-1445-2).

El número de insertos (número de sitios de integración del T-DNA en el genoma de algodón) se evaluó mediante la digestión de DNA del evento **RF** (MON-88913-8) y material MON-88913-8(-) con la enzima de restricción *Spe I* que no corta dentro del inserto de T-DNA. Esta enzima libera un fragmento de restricción conteniendo el inserto de DNA completo y DNA genómico adyacente de la planta (**Figura 3**). El número de fragmentos de restricción detectados indica el número de insertos presentes en **RF**.

DNA proveniente del plásmido PV-GHGT35 previamente digerido con *Nco I*, mezclado con DNA de MON-88913-8(-) digerido con *Spe I* (**Figura 3, carriles 7 y 8**), produjo bandas de los tamaños esperado ~9.6 kb y ~4.1 kb. El DNA de **RF** digerido con *Spe I* (**Figura 3, carriles 3 y 9**) produjo una sola banda de ~13.0 kb. Esto indica que **RF** contiene un inserto de DNA localizado en un fragmento de restricción *Spe I* de ~13.0 kb. DNA de algodón **RF** digerido con una combinación de las enzimas *Spe I* y *Sca I* (**Figura 3, carriles 4 y 10**) produjo dos bandas únicas de ~12.0 kb y ~1.2 kb en el carril 10, representado los fragmentos borde esperados que indican que sólo una copia simple del inserto de DNA está presente. La banda de ~1.2 kb esperada en el carril 4 (long run) salió del gel y no es visible en la figura.

El concepto de usar corridas electroforéticas cortas y largas para los análisis de hibridación Southern fue para ayudar a diferenciar fragmentos de restricción de tamaño aproximado que migran muy cerca y para asegurar que los fragmentos de bajo peso molecular fueran retenidos al final del gel de agarosa. Las corridas largas proveen mejor resolución para fragmentos de restricción de alto peso molecular, y las corridas cortas proveen retención y resolución para fragmentos de restricción de menor peso molecular. El DNA de MON-88913(-) se digirió con *Spe I* (**Figura 3, carriles 1 y 5**) o una combinación de *Spe I* y *Sca I* (**Figura 3, carriles 2 y 6**) no produjo señal de hibridación. La marca débil que se observa a ~40 kb en el carril 4 es un artefacto de hibridación inespecífico. Ya que esto aparece sólo en el carril 4 de la corrida larga y no en el carril 10 de la corrida corta y no obscurece alguna señal de hibridación esperada, no afecta la interpretación de este análisis de hibridación.

Los componentes individuales y el tamaño, fuente y función de las secuencias heredadas se muestran en la **Tabla 2**. La representación esquemática del inserto de **RF** se presenta en la **Figura 4**.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

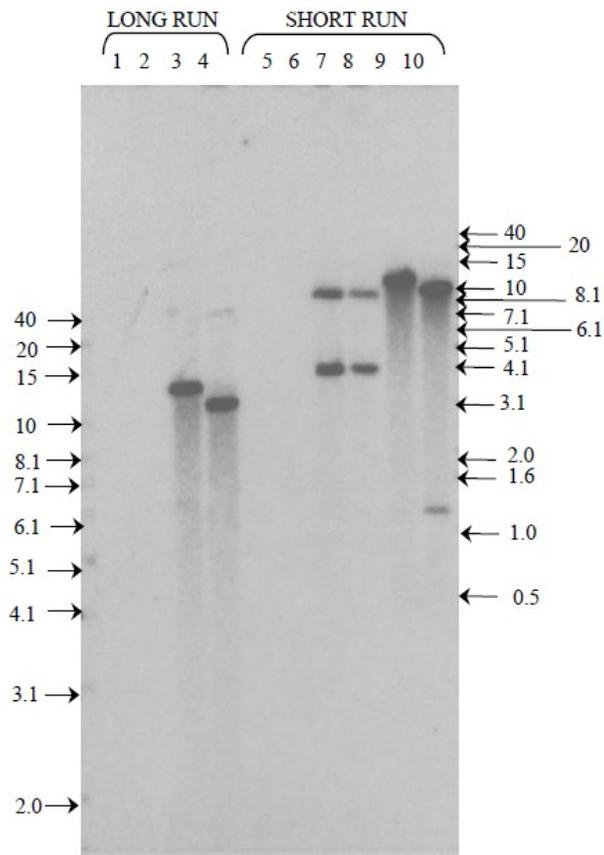


Figura 3. Análisis de hibridación Southern de *RF* (MON-88913-8): análisis del número de insertos y copias.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Tabla 2. Resumen de los elementos genéticos contenidos en t-DNA del plásmido PV-GHGT35 utilizado en la obtención del algodón Solución Faena Flex® (RF).

Elemento genético	Función
P¹- FMV/TSF1	Promotor quimérico constituido por la región promotora del gen <i>tsf1</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> y secuencias potenciadoras del promotor 35S del virus del mosaico de la <i>Scrophularia</i> (FMV).
L²-TSF1	Secuencia líder (exón 1) del gen <i>tsf1</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> que codifica al factor de elongación EF-1alfa.
I³-TSF1	Intrón del gen <i>tsf1</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> que codifica al factor de elongación EF-1alfa.
TS⁴- <i>ctp2</i>	DNA derivado de <i>Arabidopsis thaliana</i> . Péptido de tránsito al cloroplasto aislado de la EPSPS de <i>Arabidopsis thaliana</i> , empleado para dirigir la proteína CP4 EPSPS al cloroplasto, el sitio de la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos.
CR- <i>cp4 epsps</i>	Secuencia de DNA codificando para la proteína CP4 EPSPS de <i>Agrobacterium sp.</i> cepa CP4.
T⁵-E9	Secuencia de DNA derivada de <i>Pisum sativum</i> , conteniendo la región 3' no traducida del gen <i>rbc</i> E9, codificante para la subunidad pequeña de la ribulosa 1,5 bisfosfato carboxilasa de chícharo.
P-35S/ACT8	Promotor quimérico constituido por la región promotora del gen <i>act8</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> combinado con secuencias potenciadoras del promotor 35S del Virus del Mosaico de la Coliflor.
L-ACT8	Secuencia líder del gen <i>act8</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> .
I-ACT8	Intrón y secuencia del exón flanqueante del gen <i>act8</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> .
TS-<i>ctp2</i>	Secuencia de DNA derivado de <i>Arabidopsis thaliana</i> . Péptido de tránsito al cloroplasto aislado de la EPSPS de <i>Arabidopsis thaliana</i> , empleado para dirigir la proteína CP4 EPSPS al cloroplasto, el sitio de la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos.
CR - <i>cp4 epsps</i>	Secuencia de DNA codificando para la proteína CP4 EPSPS de <i>Agrobacterium sp.</i> cepa CP4.
T-E9	Secuencia de DNA derivada de <i>Pisum sativum</i> , conteniendo la región 3' no traducida del gen <i>rbc</i> E9, codificante para la subunidad pequeña de la ribulosa 1,5 bisfosfato carboxilasa de chícharo.

¹ P - Promotor² L - Líder³ I - Intrón⁴ TS - Secuencia del péptido de tránsito.⁵ T - secuencia no traducida de terminación de la transcripción y secuencias señal de poliadenilación.

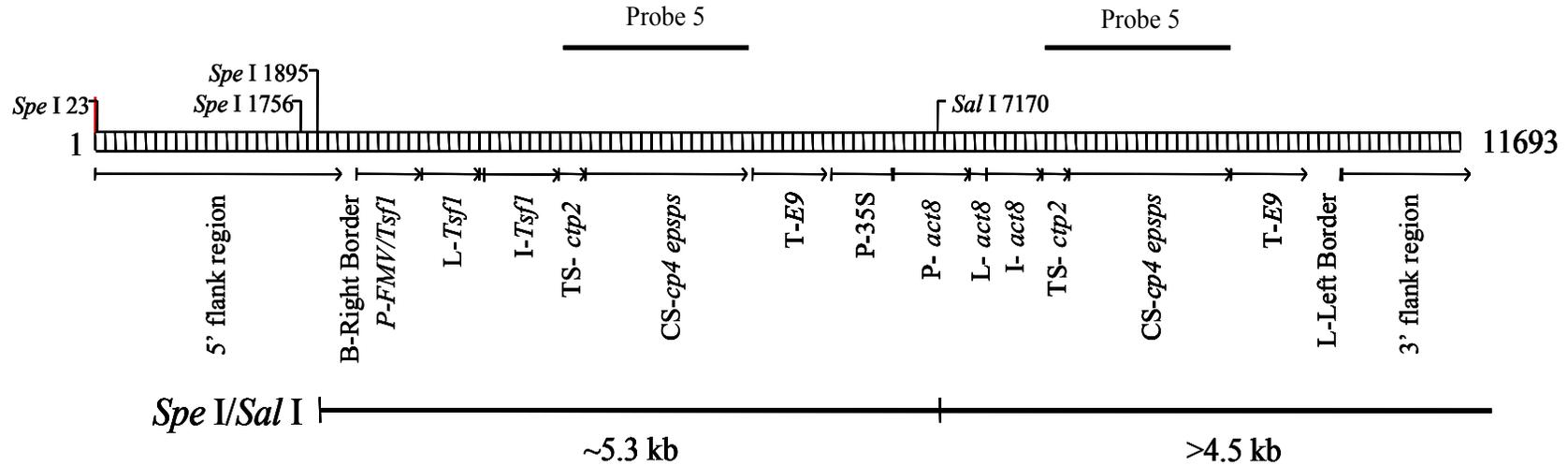


Figura 4. Representación esquemática del inserto y secuencias genómicas flanqueantes en Solución Faena Flex®.

Mapa lineal mostrando el inserto en Solución Faena Flex® (MON-88913-8) y DNA adyacente flanqueando el inserto. Elementos genéticos dentro del inserto se identifican en el mapa, así como sitios de restricción con posiciones relativas al tamaño del mapa lineal para enzimas utilizadas en los análisis de hibridación Southern. Las flechas indican la dirección de la transcripción.

Probe 5 (Sonda 5): posición de inicio: 6717; posición de término: 8084 (longitud total ~ 1.4 kb)

Probe 5 (Sonda 5): posición de inicio: 10833; posición de término: 12200 (longitud total ~ 1.4 kb)

I.i. Descripción de las secuencias flanqueantes, número de copias insertadas, expresión de los mensajeros

SECUENCIAS FLANQUEANTES

Se confirmó la organización de los elementos componentes del inserto de DNA en *RF* utilizando análisis de PCR. Se amplificaron seis regiones superpuestas de DNA que cubren la longitud completa del inserto y el DNA genómico flanqueante inmediato en las regiones de unión en los extremos 5' y 3'. La localización de los productos de PCR generados en relación al inserto, así como los resultados se muestran en la **Figura 5**. Se verificó por PCR la secuencia en los extremos 5' y 3' utilizando DNA genómico de algodón *RF* como templado. La reacción de PCR para el fragmento **inserto 5'-genoma de la planta** se realizó utilizando un primer diseñado para la secuencia de DNA genómico flanqueante 5', pareado con un segundo primer en el extremo 5' del inserto de DNA. La PCR para el fragmento **inserto 3'-genoma de la planta** se realizó utilizando un primer diseñado para secuencia de DNA genómico flanqueante 3', pareado con un segundo primer localizado en el extremo 3' del inserto de DNA.

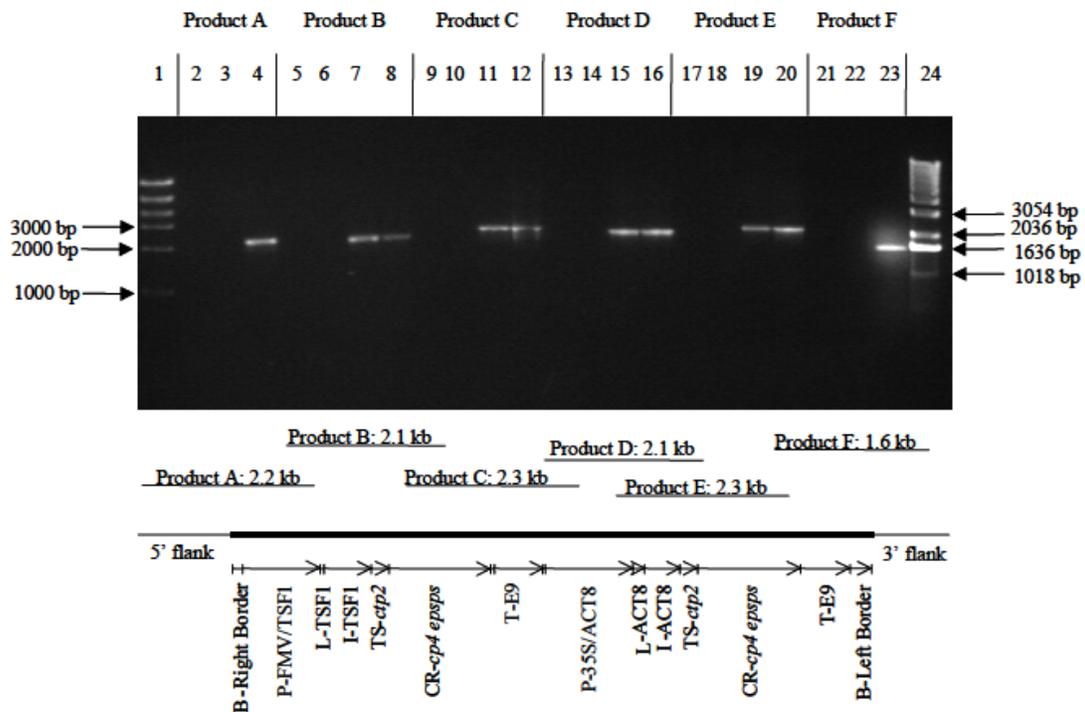


Figura 5. Análisis por PCR del inserto en *RF* (MON-88913-8).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

NÚMERO DE COPIAS INSERTADAS

El algodón Solución Faena Flex® (RF), evento MON-88913-8, se desarrolló vía transformación con *Agrobacterium tumefaciens* de la variedad de algodón Coker 312, para insertar **un constructo con doble copia del gen cp4 epsps** que codifica la enzima CP4 EPSPS. Esta proteína le confiere la característica de tolerancia a los herbicidas no selectivos de la familia Faena® (glifosato). En este evento, que **contiene un inserto único**, las características de la inserción y de las secuencias flanqueantes están conservadas. Aparte de tolerancia al herbicida, conferida por la inserción del evento **RF**, no hay diferencias biológicamente significativas entre el algodón *RF* y su contraparte convencional.

EXPRESIÓN

Se evaluaron los niveles de la proteína CP4 EPSPS en tejido foliar joven y maduro (OSL), radicular, semilla y polen colectados de plantas **RF** de pruebas de campo en cuatro localidades de **Estados Unidos en 2002**. Para esto se utilizó un ensayo de ELISA validado y los niveles de proteína para todos los tejidos se expresaron en microgramos por gramo ($\mu\text{g/g}$) en peso base húmeda. El contenido de humedad se midió en todos los tejidos excepto polen. Los niveles de proteína de los tejidos vegetales fueron convertidos a base seca mediante cálculos. El nivel medio de proteína CP4 EPSPS entre los cuatro sitios experimentales para tejido foliar joven, OSL1, OSL2, OSL3, raíz y semilla de **RF** fue de 970, 1400, 690, 630, 99 y 340 $\mu\text{g/g}$ en peso seco, respectivamente (**Tabla 3**). En el caso de polen para los cuatro sitios fue 4.0 $\mu\text{g/g}$ peso base húmeda. Los niveles de proteína CP4 EPSPS en todos los tejidos del material MON-88913(-) estuvieron por debajo del límite de cuantificación del ensayo.

Durante el ciclo agrícola **PV-2007** se colectaron hojas (en diferentes tiempos: OSL1, OSL2, OSL3 y OSL4) de varias tecnologías de algodón biotecnológico en las regiones algodoneras de Sonora Sur, Mexicali y La Laguna en **México**, entre ellas hojas de algodón **RF** (MON-88913-8). Se realizaron análisis de ELISA validados para determinar los niveles de las diferentes proteínas insertadas en los eventos, entre ellas CP4 EPSPS. Los resultados de los niveles de proteína para **RF** en los tiempo OSL1 – OSL4, fueron 520, 510, 530 y 520 $\mu\text{g/g}$ de peso en base húmeda, respectivamente.

De acuerdo a los resultados, se observaron niveles similares de la proteína CP4 EPSPS en tejido de **RF** entre las muestras de diferentes regiones (**ANEXO 2. RA 07-RA-60-2 Niveles de proteínas GM en hoja de algodón México 2007**). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en las pruebas de campo en Estados Unidos durante 1999 (**ANEXO 3. MSL-16614 Niveles de proteínas GM en algodón USA 1999**) y 2004 (**ANEXO 4. MSL-19892 Niveles de proteínas GM en algodón USA 2004**) donde se encontró que la expresión de la proteína EPSPS fue comparable entre regiones mediante detección inmunológica.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Tabla 3. Niveles de proteína en tejidos de RF (MON-88913-8) durante 2002[†].

Tipo de tejido	Nivel medio de proteína CP4 EPSPS en µg/g pbh (DE) ¹	Rango ² (µg/g pbh)	Nivel medio de proteína CP4 EPSPS en µg/g ps (DE) ¹	Rango ³ (µg/g ps)	LOQ/LOD (µg/g pbh)
Tejido foliar joven	170(64)	64 – 260	970 (460)	270 – 1700	0.23 / 0.069
OSL1 ⁴	270 (99)	77 – 410	1400 (540)	480 – 2600	0.23 / 0.069
OSL2	170 (44)	63 – 260	690 (210)	290 – 1000	0.23 / 0.069
OSL3	160 (61)	66 – 260	630 (230)	290 – 1100	0.23 / 0.069
Raíz	31 (11)	19 – 64	99 (40)	57 – 200	0.23 / 0.073
Semilla	310 (110)	67 – 550	340 (120)	72 – 580	2.7 / 1.7
Polen	4.0 (0.22)	3.8 – 4.3	n/a ⁵	n/a ⁵	0.23 / 0.11

[†] Tejidos producidos en campo en 2002 en los condados de Baldwin, Alabama; Tulare, California; Clarke, Georgia y Hockley, Texas.

¹ Los niveles de proteína están expresados como microgramos (µg) de proteína por gramo (g) de tejido en base a peso húmedo (pbh). La media aritmética y desviación estándar (DE) se calcularon para cada tipo de tejido entre sitios.

² Los valores máximo y mínimo se determinaron para cada tipo de tejido entre todos los sitios

³ Los niveles de proteína están expresados como µg/g de tejido en base a peso seco (ps). Los valores de peso seco se calcularon dividiendo los valores de pbh entre los factores de conversión de ps obtenidos de los datos de los análisis de humedad.

⁴ Los tejidos OSL1 – OSL3 representan hojas en diferentes estadios colectadas a través de la temporada en diferentes tiempos.

⁵ Debido a las cantidades limitadas de polen de algodón, los niveles de humedad no pudieron ser determinados y los valores se presentan sólo en peso en base húmeda.

La eficacia en cuanto a tolerancia al herbicida se ha mantenido durante el desarrollo de los eventos de algodón biotecnológico **SF**, desde su comercialización en 1996 y seguida a partir de 2002 con el algodón **RF**; al igual que la calidad de la semilla, que se ha mantenido después de la transferencia del gen *cp4 epsps* dentro de distintas variedades comerciales.

I.j. Mapa de la construcción genética, tipo de herencia de los caracteres, expresión de las proteínas y su localización.

MAPA DE LA CONSTRUCCIÓN GENÉTICA

- a) Para obtener el algodón **Solución Faena Flex®** (MON-88913-8) se utilizó como vector la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* mediante el plásmido PV-GHGT35 (Figura 1).

En el algodón **RF** se encuentran dos copias del gen *cp4 epsps* y cada copia se encuentra bajo el control de diferentes promotores. Una copia se encuentra bajo el control del promotor 35S del Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV) mientras que el otro se encuentra bajo el control del promotor 35S del virus del mosaico de la *Scrophularia* (FMV). Los

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

promotores 35S dirigen la expresión de los genes *cp4 epsps* en todos los tejidos de la planta durante todo su desarrollo (expresión constitutiva). El algodón GM también presenta elementos promotores adicionales y secuencias no codificantes para mejorar la expresión génica, estos elementos adicionales se han obtenido de otras especies vegetales. La región 3' de las construcciones que permiten la expresión del mRNA de *cp4 epsps* también proviene de otras especies vegetales.

TIPO DE HERENCIA DE LOS CARACTERES

Se realizó un análisis de hibridación Southern a lo largo de cinco generaciones de algodón **RF**. Durante los ensayos se comprobó que este evento contiene una sola copia del inserto en un solo locus de integración, el cual a su vez contiene dos copias intactas del gen *cp4 epsps* y no se encontraron secuencias adicionales del plásmido usado en la transformación. Además, se realizaron análisis de PCR y secuenciación para identificar los sitios de inserción y las regiones flanqueantes 5' y 3' del genoma del algodón, adyacentes a la construcción. Esto confirma la organización correcta de los elementos de la construcción y la estabilidad del evento en múltiples generaciones (**ANEXO 5. MSL-19580, Análisis Molecular de RF**).

En resumen, se concluye que el DNA insertado en el evento de algodón **RF** se integró de manera estable y la característica conferida es fenotípica y genéticamente estable a través de varias generaciones y condiciones ambientales. La estabilidad genética se puede confirmar también por la exitosa comercialización de las variedades de algodón **SF** y **RF**.

Teniendo en cuenta la información sobre la integración del material genético insertado, estabilidad de número de copias, segregación mendeliana de los rasgos a través de múltiples generaciones y expresión similar de las proteínas CP4 EPSPS en varias regiones de diferentes países y bajo condiciones ambientales y agronómicas distintas; podemos concluir que la característica de tolerancia a glifosato es estable en los diferentes eventos de algodón.

Si se llevara a cabo la recombinación, ésta afectaría secuencias genéticas localizadas en diferentes lugares del ADN genómico y, muy probablemente, resultaría en translocaciones cromosomales con consecuencias letales o al menos disminución de la capacidad de supervivencia para las células afectadas y su progenie. Además, tales rearrreglos tendrían que suceder en una fase temprana del desarrollo de la planta o la semilla para tener efectos significativos. Mientras más tarde ocurra, menor será el número de células vegetales afectadas. Dado que este tipo de recombinación es poco probable y tiene muchas posibilidades de producir líneas celulares no viables, es extremadamente poco probable que el producto recombinado origine alguna línea celular reproductiva.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

En el caso altamente improbable en el cual ocurriera recombinación que involucrara el inserto en el evento **RF**, éste sería un proceso de translocación entre las secuencias que son homólogas entre los insertos de **RF**, limitadas al promotor 35S y la secuencia del péptido líder *ctp2*. La única consecuencia posible sería la modificación del nivel de expresión de los genes afectados y no una modificación de la calidad de la proteína producida. Incluso si este evento hipotético sucediera, afectaría sólo unas pocas semillas y, por lo tanto, la cantidad total de proteínas resultantes de este raro evento seguirían siendo extremadamente bajas, y el nivel de exposición a dichas proteínas no cambiaría significativamente. Debido a la seguridad demostrada de la proteína recombinante introducida en **RF**, el riesgo que podría surgir de esta recombinación hipotética es insignificante.

Conclusión

Tomando en cuenta la estabilidad de los elementos genéticos por varias generaciones, la **segregación mendeliana** también por varias generaciones, el bajísimo potencial de recombinación del inserto en el evento **RF**, y la viabilidad e idoneidad seriamente comprometidas de las células afectadas por el evento hipotético de translocación genómica, el riesgo de tal recombinación es descartable. Varios años de cultivo comercial en varios países sin observaciones de inestabilidad genética proveen más evidencia en apoyo de este hecho. **Se concluye que el inserto de ADN en el algodón RF se integró de manera estable y la característica conferida es fenotípica y genéticamente estable a través de varias generaciones y condiciones ambientales.**

EXPRESIÓN DEL MATERIAL INSERTADO

Se evaluaron los niveles de la proteína CP4 EPSPS en tejido foliar joven y maduro (OSL), tejido radicular, semilla y polen colectados de plantas **RF** de pruebas de campo en cuatro localidades de **Estados Unidos en 2002**. Para esto se utilizó un ensayo de ELISA validado y los niveles de proteína para todos los tejidos se expresaron en microgramos por gramo ($\mu\text{g/g}$) en peso base húmeda. El contenido de humedad se midió en todos los tejidos excepto polen. Los niveles de proteína de los tejidos vegetales fueron convertidos a base seca mediante cálculos. El nivel medio de proteína CP4 EPSPS entre los cuatro sitios experimentales para tejido foliar joven, OSL1, OSL2, OSL3, raíz y semilla de **RF** fue de 970, 1400, 690, 630, 99 y 340 $\mu\text{g/g}$ en peso seco, respectivamente (**Tabla 3**). En el caso de polen para los cuatro sitios fue 4.0 $\mu\text{g/g}$ peso base húmeda. Los niveles de proteína CP4 EPSPS en todos los tejidos del material MON-88913(-) estuvieron por debajo del límite de cuantificación del ensayo.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Durante el ciclo agrícola **PV-2007** se colectaron hojas (en diferentes tiempos: OSL1, OSL2, OSL3 y OSL4) de varias tecnologías de algodón biotecnológico en las regiones algodoneras de Sonora Sur, Mexicali y La Laguna en **México**, entre ellas hojas de algodón **RF** (MON-88913-8). Se realizaron análisis de ELISA validados para determinar los niveles de las diferentes proteínas insertadas en los eventos, entre ellas CP4 EPSPS. Los resultados de los niveles de proteína para **RF** en los tiempo OSL1 – OSL4, fueron 520, 510, 530 y 520 µg/g de peso en base húmeda, respectivamente.

De acuerdo a los resultados, se observaron niveles similares de la proteína CP4 EPSPS en tejido de **RF** entre las muestras de diferentes regiones (**ANEXO 2. RA 07-RA-60-2 Niveles de proteínas GM en hoja de algodón México 2007**). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en las pruebas de campo en Estados Unidos durante 1999 (**ANEXO 3. MSL-16614, Niveles de proteínas GM en algodón USA 1999**) y 2004 (**ANEXO 4. MSL-19892 Niveles de proteínas GM en algodón USA 2004**) donde se encontró que la expresión de la proteína EPSPS fue comparable entre regiones mediante detección inmunológica.

La eficacia en cuanto a tolerancia al herbicida se ha mantenido durante el desarrollo de los eventos de algodón biotecnológico **SF**, desde su comercialización en 1996 y seguida a partir de 2002 con **RF**; al igual que la calidad de la semilla, que se ha mantenido después de la transferencia del gen *cp4 epsps* dentro de distintas variedades comerciales.

LOCALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS INTRODUCIDAS

La proteína CP4 EPSPS está codificada por el gen *cp4 epsps* en el DNA genómico y, después de la transcripción a mRNA y la traducción a proteína en los ribosomas, se transloca a los cloroplastos, donde ejerce su función.

I.k. Descripción del método de transformación

a) Tecnología Solución Faena Flex®.

El algodón **RF** fue obtenido mediante transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* empleando el plásmido PV-GHGT35. La línea parental del algodonoero **RF** (evento MON-88913-8) es la variedad de algodonoero Coker 312 y el evento **RF** se transfiere a variedades comerciales mediante cruzamiento convencional. Se utilizó la variedad Coker 312 debido a su respuesta positiva al sistema de cultivo de tejidos usado en el proceso de producción de plantas transgénicas. Varios investigadores (Trolinder y Goodin, 1987; Umbeck, *et al.*, 1987) han demostrado que la variedad Coker 312 y un grupo de variedades relacionados a esa línea tienen una característica de respuesta favorable al cultivo de tejidos. La variedad Coker 312, aunque no se cultiva ampliamente, es un cultivar aceptado comercialmente.

b) Transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*

El sistema de transformación con *A. tumefaciens* es bien conocido y ha sido utilizado durante muchos años en la modificación genética de diversas plantas dicotiledóneas. El plásmido vector fue modificado, de manera tal que el sistema de transformación no pudiera transmitir la enfermedad de la agalla de la corona. Este sistema de transformación integra genes del plásmido vector dentro del cromosoma de la célula de la planta de forma estable.

La bacteria *Agrobacterium tumefaciens* es un fitopatógeno que habita de manera natural en el suelo, el cual utiliza un proceso de ingeniería genética natural para alterar la maquinaria metabólica de las células de la planta hospedante. Este proceso hace que las plantas hospedantes desvíen suministros de carbono y nitrógeno orgánico para la producción de nutrientes (opinas) que pueden ser específicamente catabolizados por la bacteria invasora (Tempe y Schell, 1977). Las células infectadas son inducidas a proliferar. La enfermedad de la agalla de la corona es el resultado directo de la incorporación de una región de DNA-transferible (DNA-T), del plásmido circular Ti (inducción de tumor) de 150 a 250 kb, transferido por *A. tumefaciens* dentro del genoma de la planta hospedante.

La comprensión de este proceso natural de transformación y el hecho de que cualquier DNA externo colocado entre los bordes del DNA-T puede ser transferido a las células vegetales, permitió la construcción del primer vector y el sistema de cepas bacterianas para la transformación de plantas (Hooykaas y Shilperoort, 1992).

I.I. 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 efectos no esperados

El algodón **RF** fue obtenido mediante transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* empleando el plásmido PV-GHGT35 (**Carpeta Secuencias nucleotídicas**).

Los componentes individuales y el tamaño, fuente y función de las secuencias heredadas se muestran en la **Tabla 2**. La representación esquemática del inserto de **RF** (MON-88913-8) y sus sitios de inserción se presentan en la **Figura 4**.

En resumen, el evento **RF** (MON-88913-8) contiene las siguientes secuencias:

- El inserto único en el genoma del evento **RF** (MON-88913-8) (**Tabla 2 y Figura 4**) que está compuesto por los siguientes elementos:

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- El primer cassette de expresión del gen *cp4 epsps* que consiste del promotor quimérico *FMV/Tsf1* (1.04 kb), la secuencia líder *Tsf1* (0.05 kb), el intrón *Tsf1* (0.62 kb), la secuencia del péptido de tránsito al cloroplasto *ctp2* (0.23 kb), la secuencia codificante del gen *cp4 epsps* (1.37 kb) y la secuencia del terminador *E9* (0.64 kb).
- El segundo cassette de expresión del gen *cp4 epsps* que consiste del promotor quimérico *35S/act8* (1.17 kb), la secuencia líder *act8* (0.14 kb), el intrón *act8* (0.47 kb), la secuencia del péptido de tránsito al cloroplasto *ctp2* (0.23 kb), la secuencia codificante del gen *cp4 epsps* (1.37 kb) y la secuencia del terminador *E9* (0.64 kb).

Además no se han encontrado efectos no esperados ni proteínas de fusión producto de la modificación genética de RF.

I.m. Secuencia de aminoácidos y de las proteínas novedosas expresadas, tamaño del producto del gen, expresión de copias múltiples

El algodón **RF** fue obtenido mediante transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* empleando el plásmido PV-GHGT35, para introducir una construcción que se compone de dos cassettes de expresión cada uno con una copia del gen *cp4 epsps* que codifica la proteína CP4 EPSPS.

Proteína CP4 EPSPS.

El gen *cp4 epsps* que confiere tolerancia al glifosato [N-(fosfometil) glicina], ingrediente activo de los herbicidas de la familia Faena®, fue aislado de la bacteria *Agrobacterium* sp. cepa CP4. La enzima EPSPS (5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa) es una enzima crítica en la biosíntesis de aminoácidos aromáticos que cataliza la adición de enolpiruvil a partir de fosfoenolpiruvil a shikimato-3-fosfato. La enzima EPSPS es esencial para la síntesis de aminoácidos aromáticos y casi todos los compuestos aromáticos en las plantas, bacterias, algas y hongos, pero está ausente en mamíferos (Bentley, 1990; Eschenburg *et al.*, 2002). La inhibición de la enzima EPSPS por el glifosato bloquea esta ruta metabólica, lo cual eventualmente provoca la muerte de la célula (Steinrücken y Amrhein, 1980). La proteína CP4 EPSPS es naturalmente insensible al glifosato (Padgett *et al.*, 1993) tal como otras enzimas EPSPS microbianas (Schulz *et al.*, 1985; Eschenburg *et al.*, 2002).

La secuencia codificante del gen *cp4 epsps* fue modificada por mutagénesis dirigida para obtener una expresión óptima en plantas (Padgett *et al.*, 1993). El gen nativo *cp4 epsps* contiene secuencias que podrían ser desfavorables para una expresión alta en algunas plantas. Estas secuencias incluyen sitios potenciales de poliadenilación, que generalmente son ricas en

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

A+T, con un porcentaje más alto de G+C del que comúnmente se encuentra en los genes de plantas dicotiledóneas (63% contra ~50%), regiones concentradas de residuos de G y C, y codones que no son de uso frecuente en los genes de las plantas dicotiledóneas. Se sintetizó una versión del gen con uso de codones preferenciales por la planta, que fue utilizada en el vector de transformación del algodón. Esta secuencia codificante fue expresada en *Escherichia coli* con un vector *PRecA 10L* (Olins *et al.*, 1988) y la actividad de la enzima EPSPS se comparó con la del gen nativo *cp4 epsps*. Los resultados establecieron que aunque la secuencia del gen fue modificada, la enzima producida por el gen modificado presenta exactamente la misma secuencia de aminoácidos que la enzima producida por *Agrobacterium*, asimismo, su actividad también permanece inalterada.

El promotor que controla la expresión del gen *cp4 epsps* en el algodón **RF** es el promotor CMoVb (promotor 35S del virus del mosaico de la *Scrophularia*) (Richins *et al.*, 1987; Gowda *et al.*, 1989; Sanger *et al.*, 1990). El promotor está unido a la región codificante del péptido de tránsito al cloroplasto (CTP) del gen *epsps* de *Arabidopsis thaliana* (Klee *et al.*, 1987). El CTP dirige la enzima EPSPS al cloroplasto que es el sitio de biosíntesis de aminoácidos aromáticos. En las plantas, la enzima EPSPS es sintetizada como una preproteína (conteniendo el CTP) por ribosomas libres en el citoplasma celular. El precursor es transportado al interior del estroma del cloroplasto y es procesado proteolíticamente para producir la enzima madura (della-Cioppa *et al.*, 1986). Una vez desprendido, el CTP se degrada rápidamente (Bartlett *et al.*, 1982; della-Cioppa *et al.*, 1986).

La secuencia de terminación transcripcional del mRNA proviene de la región 3' no traducida del gen de la ribulosa 1, 5-bifosfato carboxilasa (*rbcS*) *E9* del chícharo (*Pisum sativum*) para controlar la terminación transcripcional y la poliadenilación del gen *cp4 epsps* (Corruzi *et al.*, 1984).

La proteína CP4 EPSPS se detectó mediante análisis de Western blot (reconocimiento de proteínas mediante anticuerpos específicos) en extractos de proteína de semilla de algodón **SF** (Barry *et al.*, 1993). Un anticuerpo específico para la proteína CP4 EPSPS reaccionó con una proteína de 48 kD, el peso molecular esperado para la proteína menos el CTP, confirmando que este péptido es cortado durante el proceso de transporte al cloroplasto. En la **Figura 6** se presenta la secuencia de aminoácidos de la proteína CP4 EPSPS.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

1	MLHGASSRPA	TARKSSGLSG	TVRIPGDKSI	SHRSFMFGGL	ASGETRITGL
51	LEGEDVINTG	KAMQAMGARI	RKEGDTWIID	GVGNGLLAP	EAPLDFGNAA
101	TGCRMTMGLV	GVYDFDSTFI	GDASLTKRPM	GRVLNPLREM	GVQVKSEGD
151	RLPVTLRGPK	TPTPITYRVP	MASQVKSVA	LLAGLNTPGI	TTVIEPIMTR
201	DHTEKMLQGF	GANLTVETDA	DGVRTIRLEG	RGKLTGQVID	VPGDPSSTAF
251	PLVAALLVPG	SDVTILNVLM	NPTRTGLILT	LQEMGADIEV	INPRLAGGED
301	VADLRVRSST	LKGVTVPEDR	APSMIDEYPI	LAVAAAFAG	ATVMNGLEEL
351	RVKESDRLSA	VANGLKLNGV	DCDEGETSLV	VRGRPDGKGL	GNASGAAVAT
401	HLDHRIAMSF	LVMGLVSENP	VTVDDATMIA	TSPFPEFMDLM	AGLGAKIELS
451	DTKAA				

Figura 6. Secuencia deducida de aminoácidos de la proteína CP4 EPSPS presente en el algodón RF.

Dentro de los elementos que se utilizaron durante la transformación del algodón **RF** también se encuentra presente la secuencia del gen *aad* que codifica la proteína 3'(9)-O-aminoglicosido adenililtransferasa (AAD). Esta secuencia se encuentra en el plásmido PV-GHGT35, pero se localizan fuera de los bordes del T-DNA. Por lo tanto, no se esperaba que se transfirieran al genoma del algodón y su ausencia en **RF** se ha confirmado mediante análisis moleculares (**ANEXO 6. Evaluación Solución Faena Flex FDA**).

Proteína AAD

El gen de resistencia a antibióticos, *aad*, fue aislado del transposón bacteriano Tn7 y confiere resistencia a los antibióticos espectinomicina y estreptomycin (Davies y Benveniste, 1974). Este gen codifica la expresión de la enzima 3'(9)-O-aminoglicosido adenililtransferasa (AAD) y está bajo el control de su propio promotor bacteriano. El gen *aad* no se expresa en las plantas de algodón GM debido a que su promotor bacteriano no es activo en plantas y los elementos reguladores necesarios para su expresión en las plantas no fueron adicionados a la construcción. El gen *aad* fue usado en el laboratorio, en la fase previa la transformación genética de las células de algodón, para seleccionar las bacterias que contenían el plásmido con el DNA de interés. En la **Figura 7** se presenta la secuencia de aminoácidos de la proteína AAD.

1	MREAVIAEVS	FQLSEVVGVI	ERHLEPTLLA	VHLYGSAVDG	GLKPHSDIDL
51	LVTVTVRLDE	TTRRALINDL	LETSASPGES	EILRAVEVTI	VVHDDIIPWR
101	YPAKRELQFG	EWQRNDILAG	IPEPATIDID	LAILLTKARE	HSVALVGPAA
151	EELFDPVPEQ	DLFEALNETL	TLWNSPPDWA	GDERNVVLTL	SRIWYSAVTC
201	KIAPKDVAAD	WAMERLPAQY	QPVILEARQA	YLGQEDRLAS	RADQLEEFVH
251	YVKGEITKVV	GK			

Figura 7. Secuencia de aminoácidos de la proteína AAD utilizada en el proceso de transformación pero no integrad al genoma del algodón RF.

I.n. Rutas metabólicas involucradas en la expresión del transgen y sus cambios

EPSPS

La proteína CP4 EPSPS de *Agrobacterium tumefaciens* es una enzima que está presente en los algodones genéticamente modificados que contienen alguna de las tecnologías Solución Faena® (**SF**) y Solución Faena Flex® (**RF**). Esta proteína les confiere la característica de tolerancia al herbicida no selectivo glifosato y **participa dentro de la ruta metabólica de biosíntesis de aminoácidos aromáticos**, al igual que el resto de las EPSPS de todas las plantas. Sin embargo, a diferencia de las demás, CP4 EPSPS de *A. tumefaciens* es naturalmente resistente al glifosato (Duke, 1988). Esto se debe a un sitio activo reducido donde el glifosato no encaja. De esta manera, la proteína permanece funcional en presencia del herbicida y conserva activa la producción de aminoácidos aromáticos esenciales para la vida de la planta.

La proteína CP4 EPSPS se produce en el algodón **RF** y se exporta a los cloroplastos de sus células, el sitio de síntesis de aminoácidos aromáticos, vía fusión N-terminal con un péptido de tránsito al cloroplasto (CTP2), para formar el precursor CTP2-CP4. La proteína precursora producida en el citoplasma se procesa para remover el péptido de tránsito al ser translocada al cloroplasto, lo que resulta en la proteína CP4 EPSPS madura y funcional.

Se sintetizó una versión del gen que utiliza codones con mayor afinidad por las polimerasas vegetales y se insertó en los vectores utilizados para la transformación del algodón. Esta secuencia codificante se expresó en *E. coli* y la actividad de la proteína EPSPS se comparó con la de la proteína nativa. Los resultados demostraron que la enzima expresada a partir del gen sintético permanecía inalterada. La identidad de la proteína producida *in planta* se confirmó usando análisis de Western blot y análisis de secuencia N-terminal. En base al Western blot se encontró que la movilidad electroforética y las propiedades inmunorreactivas de la proteína aislada del algodón GM eran equivalentes a las de la proteína de referencia EPSPS producida en *E. coli*.

La información sobre caracterización bioquímica del algodón **RF** se ha presentado anteriormente en las solicitudes de Permiso a la Secretaría de Salud y permisos de liberaciones experimentales de otras regiones. Esta información se base en numerosos artículos científicos independientes donde se demuestra la inocuidad de la proteína CP4 EPSPS, su nula toxicidad en mamíferos y su equivalencia sustancial respecto de algodón convencional.

I.o. Productos de degradación de la proteína codificada por el transgén en subproductos

La proteína CP4 EPSPS (CP4 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa) introducida en el algodón **RF**, está bien caracterizada en términos de su actividad bioquímica, modo de acción e impacto en forma libre y como componente de la planta GM. Esta proteína proviene de *Agrobacterium tumefaciens*, una bacteria común del suelo.

La CP4 EPSPS es una enzima que está presente en los algodones genéticamente modificados que contienen alguna de las tecnologías **Solución Faena**[®] (**SF**) y **Solución Faena Flex**[®] (**RF**). Esta proteína les confiere la característica de tolerancia al herbicida no selectivo glifosato y participa dentro de la ruta metabólica de biosíntesis de aminoácidos aromáticos, al igual que el resto de las EPSPS de todas las plantas. Sin embargo, a diferencia de las demás, CP4 EPSPS de *A. tumefaciens* es naturalmente resistente a glifosato (Duke, 1988). Esto se debe a un sitio activo reducido donde el glifosato no encaja. De esta manera, la proteína permanece funcional en presencia del herbicida y conserva activa la producción de aminoácidos aromáticos esenciales para la vida de la planta.

La proteína CP4 EPSPS está codificada en el genoma del algodón **RF** y se exporta postraduccionalmente a los cloroplastos, el sitio de síntesis de aminoácidos aromáticos, vía fusión N-terminal con un péptido de tránsito al cloroplasto (CTP2), para formar el precursor CTP2-CP4. La proteína precursora producida en el citoplasma, se procesa para remover el péptido de tránsito al ser translocada al cloroplasto, lo que resulta en la proteína CP4 EPSPS madura y funcional.

Se sintetizó una versión del gen que utiliza codones con mayor afinidad por las polimerasas vegetales y se insertó en los vectores utilizados para la transformación del algodón. Esta secuencia codificante se expresó en *E. coli* y la actividad de la proteína EPSPS se comparó con la de la proteína nativa. Los resultados demostraron que la enzima expresada a partir del gen sintético permanecía inalterada. La identidad de la proteína producida *in planta* se confirmó usando análisis de Western blot y análisis de secuencia N-terminal. En base al Western blot se encontró que la movilidad electroforética y las propiedades inmunorreactivas de la proteína aislada del algodón GM eran equivalentes a las de la proteína de referencia EPSPS producida en *E. coli*.

Diversos investigadores caracterizaron ampliamente la CP4 EPSPS y los resultados demostraron que posee propiedades enzimáticas equivalentes a las proteínas EPSPS endógenas de plantas y microorganismos (Harrison *et al.*, 1996). El control de plantas dañinas que se realiza con el glifosato ocurre por la inhibición de las enzimas EPSPS endógenas de las plantas (Malik *et al.*, 1989). Esta enzima cataliza una etapa en la vía metabólica del ácido shikímico para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina) en plantas y microorganismos (Haslam, 1974; 1993). La vía del ácido shikímico es también

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

responsable por la biosíntesis de metabolitos secundarios como el tetrahidrofolato, la ubiquinona y la vitamina K. Debido a su función, las enzimas EPSPS son esenciales para el crecimiento normal de plantas y microorganismos. Aunque esta vía y las proteínas EPSPS están ausentes en mamíferos, peces, aves, reptiles e insectos, ellas son de suma importancia en plantas y microorganismos (Alibhai y Stallings, 2001). Se estima que las moléculas aromáticas derivadas del ácido shikímico representan 35% o más del peso seco de las plantas (Franz *et al.*, 1997). No existe toxicidad asociada a esta familia de enzimas que presenta una larga historia de seguridad ambiental y alimenticia, ya que está presente de manera ubicua en la naturaleza y en la dieta humana y animal. Además de eso, **las enzimas EPSPS no son conocidas por persistir en el ambiente** o por afectar el fenotipo del organismo hospedero con propiedades negativas, como patogenicidad o potencial de desarrollo en plantas dañinas.

La enzima CP4 EPSPS posee afinidad baja para glifosato, comparada con las otras proteínas EPSPS silvestres. La comparación de parámetros cinéticos entre la proteína CP4 EPSPS y la EPSPS endógena elucidaron el mecanismo de inhibición del glifosato. Este mecanismo ocurre por la inhibición de la actividad de la EPSPS endógena a través de la formación de un complejo EPSPS-shikimato-3-fosfato (S3P)-glifosato, que acontece apenas después la ligación de la EPSPS-S3P. La ligación de glifosato no demostró ser competitiva en relación a los S3P, sino que es competitiva en relación al fosfoenolpiruvato (PEP). Por lo tanto, la proteína CP4 EPSPS posee tolerancia alta a glifosato (K_i [glifosato]= 2,7 mM) y ligación fuerte con el substrato PEP (K_m [PEP]=12 μ M). Se han descrito varias EPSPS de bacterias que poseen tolerancia a glifosato (Schulz *et al.*, 1985). El K_m (PEP) de la enzima CP4 EPSPS es aproximadamente dos veces mayor que el K_m (PEP) de la enzima endógena EPSPS de la petunia (5 μ M) también estudiada por Monsanto. En realidad, la enzima CP4 EPSPS exhibe la menor constante K_m (PEP) existente entre todas las EPSPS tolerantes a glifosato identificadas hasta ahora. La constante $k_{cat} * K_i$ (glifosato)/ K_m (PEP), que es la medida de eficiencia catalítica de la EPSPS en presencia de glifosato, es aproximadamente 10 veces mayor para la CP4 EPSPS y para la mayor EPSPS previamente obtenida de la petunia (G101A), también caracterizada por Monsanto. Basado en estos parámetros cinéticos y en su eficacia para conferir tolerancia a glifosato en plantas, el gene *cp4 epsps* fue aislado de la *Agrobacterium tumefaciens*. cepa CP4. Así, cuando el algodón **RF**, que produce la CP4 EPSPS, es tratado con el herbicida glifosato, la acción de esta enzima permite que las plantas tolerantes a glifosato sigan desarrollándose normalmente. Ya que la vía biosintética de aminoácidos aromáticos no se encuentra en animales, como se menciona arriba, el glifosato es un herbicida que sólo actúa negativamente sobre las plantas no resistentes, lo que contribuye a una toxicidad baja para otros organismos y una mayor seguridad de este producto.

La información ofrecida arriba evidencia que la vía metabólica y el modo de acción de la proteína CP4 EPSPS en el algodón **RF** son bien conocidos y caracterizados, que esta proteína o su familia de proteínas ocurren de manera ubicua en la naturaleza y que, por lo tanto, existe

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

un historial de uso seguro y exposición a estas proteínas sin que se hayan reportado efectos adversos.

Las proteínas EPSPS son dirigidas a los cloroplastos de las plantas donde está el sitio específico de acción metabólica. Muchas de las proteínas de los plástidos son codificadas por genes nucleares y sintetizadas como moléculas precursoras de alto peso molecular. El tamaño adicional de estas proteínas precursoras es debido a la presencia de la extensión N-terminal, que es llamada de péptido de tránsito. El péptido de tránsito es necesario y suficiente para transportar las proteínas a través del citoplasma hacia el cloroplasto de las células (Chua y Schmidt, 1978; Lübben *et al.*, 1988; Mishkind *et al.*, 1985; Schmidt y Mishkind, 1986).

El gen *cp4 epsps* insertado en el algodón **RF** fue conectado a un péptido de tránsito para el cloroplasto (*ctp2*) para que la proteína CP4 EPSPS pudiera ser direccionada hacia el cloroplasto, que es el sitio de acción de todas las proteínas EPSPS (Kishora y Shah, 1988). La secuencia N-terminal de la proteína CP4 EPSPS mostró que el péptido de tránsito fue removido, indicando que la proteína fue debidamente transportada al cloroplasto (Silvanovich *et al.*, 2001). En resumen, la proteína CP4 EPSPS presente en **RF** se transporta a los cloroplastos donde actúa en la ruta metabólica del shikimato.

Harrison *et al.* (1996) demostró que la proteína CP4 EPSPS se degrada rápidamente en fluidos digestivos simulados. La vida media de esta proteína fue de menos de 15 segundos en el sistema gástrico y menos de 10 minutos en el sistema intestinal, basados en análisis de manchas Western blot. Por lo tanto, si alguna de las proteínas CP4 EPSPS fuera a sobrevivir el sistema gástrico, sería rápidamente degradada en el intestino. Como comparativo, se estima que el 50% del alimento sólido se vacía del estómago humano en dos horas, mientras que el 50% del alimento líquido se vacía en aproximadamente en 25 minutos (Sleisenger y Fordtran, 1989). Basándonos en esta información, se espera que la proteína CP4 EPSPS se degrade rápidamente en el tracto digestivo de mamíferos.

Se realizaron experimentos posteriores para determinar la digestibilidad *in vitro* de la proteína CP4 EPSPS en fluido gástrico simulado (FGS). Como en el estudio de Harrison *et al.* (1996), la CP4 EPSPS se produjo y purificó de *E. coli*. La digestibilidad se analizó por tres métodos: SDS-PAGE (Electroforesis en gel de poliacrilamida y SDS), análisis inmunológico Western blot y ensayo de actividad enzimática de la EPSPS.

Los resultados de estos experimentos demostraron que la proteína CP4 EPSPS madura, producida en *E. coli*, se digirió rápidamente después de la incubación en FGS. El método colorimétrico azul SDS-PAGE demostró que al menos el 98% de la proteína madura producida en *E. coli* se digirió en el FGS en 15 segundos (**Figura 8**). No se observaron bandas degeneradas debidas a la digestión. El análisis de Western blot confirmó que más del 96% de la proteína madura producida en *E. coli* se digirió en el FGS en menos de 15 segundos (**Figura**

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

9). De igual manera, se demostró que la actividad enzimática EPSPS se redujo a menos del 10% en 15 segundos de incubación de la proteína CP4 EPSPS en FGS (**Tabla 4**).

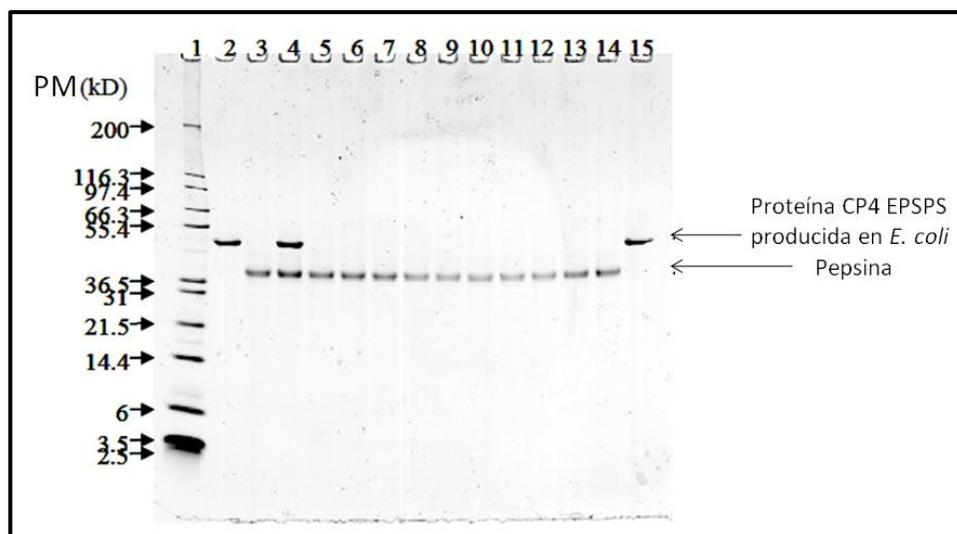


Figura 8. Análisis de SDS-PAGE mostrando la digestión de la CP4 EPSPS purificada de *E. coli* en fluidos gástricos simulados. Las proteínas fueron separadas por SDS-PAGE utilizando un gradiente de poliacrilamida 10 – 20% en un gel con buffer tricina (Tris-Glicina). Las proteínas se detectaron con un colorante Brilliant Blue G. Se cargaron 500 ng de la proteína CP4 EPSPS producida en *E. coli* por carril basados en concentraciones predigestión.

<u>Carril</u>	<u>Descripción de carriles</u>	<u>Tiempo de incubación</u>
1	Marcadores de peso molecular	
2	Control experimental sin pepsina (P0)	0 s
3	Control experimental sin CP4 EPSPS (N0)	0 s
4	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 0	0 s
5	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 1	15 s
6	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 2	30 s
7	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 3	1 min
8	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 4	2 min
9	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 5	4 min
10	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 6	8 min
11	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 7	15 min
12	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 8	30 min
13	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 9	60 min
14	Control experimental sin CP4 EPSPS (N9)	60 min
15	Control experimental sin pepsina (P9)	60 min

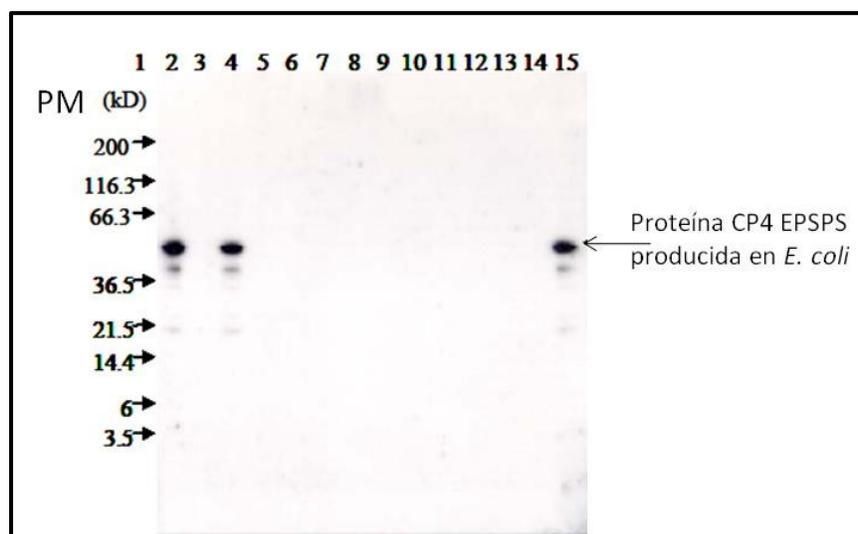


Figura 9. Análisis de Western blot mostrando la digestión de la CP4 EPSPS purificada de *E. coli* en fluidos gástricos simulados. Las proteínas fueron separadas por SDS-PAGE utilizando un gradiente de poliacrilamida 10 – 20% en un gel con buffer Tris-Glicina. Se cargó 1 ng de la proteína CP4 EPSPS producida en *E. coli* basados en la pureza y concentraciones de predigestión.

<u>Carril</u>	<u>Descripción de carriles</u>	<u>Tiempo de incubación</u>
1	Marcadores de peso molecular	
2	Control experimental sin pepsina (P0)	0 s
3	Control experimental sin CP4 EPSPS (N0)	0 s
4	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 0	0 s
5	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 1	15 s
6	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 2	30 s
7	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 3	1 min
8	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 4	2 min
9	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 5	4 min
10	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 6	8 min
11	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 7	15 min
12	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 8	30 min
13	Proteína CP4 EPSPS en FGS, T = 9	60 min
14	Control experimental sin CP4 EPSPS (N9)	60 min
15	Control experimental sin pepsina (P9)	60 min

Tabla 4. Actividad específica de la proteína CP4 EPSPS producida en *E. coli* después de la digestión en fluidos gástricos simulados.

Muestra	Actividad específica (Unidades/mg de proteína)
Control experimental sin pepsina, in cubado por 0 s	4.92
Control experimental sin pepsina, in cubado por 60 minutos	2.10
Proteína CP4 EPSPS producida en <i>E. coli</i> incubada en FGS por 0 s	5.63
Proteína CP4 EPSPS producida en <i>E. coli</i> incubada en FGS por 15 s	0.27
Proteína CP4 EPSPS producida en <i>E. coli</i> incubada en FGS por 30 s	0.15
Proteína CP4 EPSPS producida en <i>E. coli</i> incubada en FGS por 60 s	0.15
Control experimental sin CP4 EPSPS, in cubado por 0 s	0.02
Control experimental sin Cp4 EPSPS, in cubado por 60 minutos	0.05
Solución Buffer (Blanco)	0.01

I.p. Secuencia nucleotídica de las secuencias reguladoras (promotores, terminadores y otras), descripción, número de copias insertadas, pertenencia de estas secuencias a la especie receptora, inclusión de secuencias reguladoras homólogas a la especie receptora

El algodón **RF** fue obtenido mediante transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* empleando el plásmido PV-GHGT35 (**Carpeta Secuencias nucleotídicas**).

Los componentes individuales y el tamaño, fuente y función de las secuencias heredadas se muestran en la **Tabla 2**. La representación esquemática del inserto de **RF** (MON-88913-8) y sus sitios de inserción se presentan en la **Figura 4**.

En resumen, el evento **RF** (MON-88913-8) contiene las siguientes secuencias:

- El inserto único en el genoma del evento **RF** (MON-88913-8) (**Tabla 2 y Figura 4**) que está compuesto por los siguientes elementos:
 - El primer cassette de expresión del gen *cp4 epsps* que consiste del promotor quimérico *FMV/Tsf1* (1.04 kb), la secuencia líder *Tsf1* (0.05 kb), el intrón *Tsf1* (0.62 kb), la secuencia del péptido de tránsito al cloroplasto *ctp2* (0.23 kb), la secuencia codificante del gen *cp4 epsps* (1.37 kb) y la secuencia del terminador *E9* (0.64 kb).
 - El segundo cassette de expresión del gen *cp4 epsps* que consiste del promotor quimérico *35S/act8* (1.17 kb), la secuencia líder *act8* (0.14 kb), el intrón *act8* (0.47 kb), la secuencia del péptido de tránsito al cloroplasto *ctp2* (0.23 kb), la secuencia codificante del gen *cp4 epsps* (1.37 kb) y la secuencia del terminador *E9* (0.64 kb).

La proteína EPSPS nativa del algodón (plantas y microorganismos la poseen) es homóloga de la CP4 EPSPS de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* introducida en el evento **RF**. Sin embargo, la EPSPS nativa del algodón no es tolerante al herbicida glifosato y se inhibe al contacto con éste, interrumpiendo la síntesis de aminoácidos aromáticos (triptófano, fenilalanina y tirosina). Ninguna secuencia componente de los insertos de los eventos de transformación está presente de manera natural en el algodón convencional.

El evento de algodón **Solución Faena Flex®** no presenta cambios fenotípicos de significancia biológica comparado con algodón convencional. Los datos que apoyan esta afirmación provienen de cientos de pruebas de campo llevadas a cabo desde 2002, en Australia, Argentina, costa Rica, México, Sudáfrica y Estados Unidos (incluyendo Puerto Rico),

para probar sus características agronómicas, parámetros fenotípicos y eficacia. El algodón **RF** (MON-88913-8) se produjo mediante la inserción de una doble copia del gen *cp4 epsps* en la variedad de algodón Coker 312 mediante transformación con *Agrobacterium tumefaciens*. De esta manera, las únicas características que difieren entre el algodón **RF** y las variedades convencionales son la tolerancia al herbicida glifosato, como se esperaba de acuerdo al diseño del evento.

I.q. Patogenicidad o virulencia de los organismos receptores y donadores

***Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4**

La bacteria *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4 es un microorganismo presente comúnmente en el suelo y en la rizósfera de las plantas. Únicamente el gen *cp4 epsps* de esta bacteria fue transferido para producir las líneas de algodón tolerantes al herbicida Faena Ultra®. La secuencia del ADN transferido y de la proteína producida es completamente conocida y se encuentra presente en todas las plantas y en la mayoría de los microorganismos que comúnmente son parte de nuestra dieta, y no existe evidencia de que esta proteína pueda causar algún efecto negativo en la salud humana o de cualquier otro vertebrado. Adicionalmente, no se espera que los humanos estén expuestos a la proteína CP4 EPSPS expresada por el algodón **RF**, ya que el aceite derivado del algodón utilizado para el consumo humano no contiene esta proteína (Fuchs, 1994).

La proteína CP4 EPSPS no presenta homología con las secuencias de aminoácidos de las proteínas tóxicas y alergénicas de las bases de datos Pir Protein, Swissprot (Bairoch y Boeckmann, 1993) y Genpept (Benson *et al.*, 1993). La secuencia de aminoácidos o regiones de alta homología entre dos o más proteínas puede proveer información importante sobre la actividad biológica de una proteína. Es decir, la secuencia de aminoácidos puede proveer información acerca de las propiedades estructurales, hidrofóbicas e hidrofílicas, inmunogenicidad, estabilidad y la posible función de la proteína identificada. El uso de bases de datos ha demostrado ser una excelente herramienta para predecir la función biológica de proteínas desconocidas. La secuencia de la proteína CP4 EPSPS fue comparada con las secuencias peptídicas identificadas como “alérgenos” y “toxinas” de todas las bases de proteínas disponibles para identificar si la proteína CP4 EPSPS tiene alguna homología con alérgenos o toxinas. Los resultados muestran que **no existe ninguna homología significativa entre las secuencias de los alérgenos y toxinas conocidas y la secuencia de la proteína CP4 EPSPS**. La conclusión de que esta proteína no es tóxica está apoyada en los resultados de estudios de toxicología aguda en ratones, donde no se encontró ninguna evidencia de efectos tóxicos en los animales de prueba cuando se administró una dosis de 572 mg/kg de la proteína CP4 EPSPS (Naylor, 1993).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

La introducción de variedades de algodón **RF** tolerantes al herbicida glifosato no presenta ningún riesgo de provocar reacciones alérgicas. El aceite de la semilla de algodón es el producto más utilizado para el consumo humano y los análisis del aceite derivado de variedades de algodón **RF** confirmaron que no existe proteína CP4 EPSPS detectable en el aceite para uso industrial (Fuchs, 1994). Con base en estos resultados no se espera un consumo humano significativo de esta proteína. Adicionalmente, la secuencia de aminoácidos de la proteína CP4 EPSPS no muestra homología con ninguna de las secuencias de alérgenos en las tres bases de datos de proteínas actuales (Mitsky, 1993; Genpet, Pir protein y Swissprot) y, por lo tanto, se concluye que la proteína CP4 EPSPS no presenta ningún potencial alergénico para los humanos. Adicionalmente, la proteína CP4 EPSPS es rápidamente desnaturalizada por el calor y la digestión enzimática y ácida en fluidos gástricos simulados (ANZFA, 2001b).

La proteína CP4 EPSPS purificada en dosis agudas de 572 mg/kg de peso corporal no produjo efectos adversos en ratones. Esta dosis representa más de 1000 veces el consumo potencial previsto de CP4 EPSPS en alimentos derivados de todos los cultivos GM expresando esta enzima bajo desarrollo por Monsanto en ese tiempo (soya, papa, tomate, maíz) (Harrison *et al.*, 1996).

Las instituciones responsables de esta evaluación en los Estados Unidos (USDA-APHIS, FDA, EPA) y México (Secretaría de Salud) han dictaminado la inocuidad del algodón RF y aprobado su consumo humano y animal.

En cuanto al algodón (*Gossypium hirsutum*), receptor del evento Solución Faena Flex®, no presenta ni ha presentado históricamente patogenicidad o virulencia. Además, como variedad altamente domesticada, no presenta potencial de convertirse en maleza.

I.r. Genes de selección utilizados durante el desarrollo del OGM y el fenotipo que confiere estos genes de selección, incluyendo el mecanismo de acción de estos genes

El evento **RF** (MON-88913-8) fue generado mediante la integración estable de dos “cassettes” de expresión del gen *cp4 epsps* en el genoma del algodón utilizando el sistema de transformación mediado por *Agrobacterium*. Los datos muestran que el evento **RF** contiene una copia del DNA insertado en un *locus* simple de integración dentro del fragmento de restricción ~13.0 kb *Spe I* que contiene dos “cassettes” de expresión del gen *cp4 epsps* intactos. No se detectaron elementos adicionales del vector de transformación PV-GHGT35 en el genoma del algodón **RF**. La segregación mendeliana del fenotipo esperado en el algodón **RF** a través de múltiples generaciones, corrobora el análisis molecular de la estabilidad del inserto y establece el comportamiento genético del DNA insertado en un *locus* simple.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Dentro de los elementos que se utilizaron para la transformación del algodón **RF** también se encuentra presente la secuencia del gen de selección *aad* que codifica la proteína 3'(9)-O-aminoglicósido adenililtransferasa (AAD). Esta secuencia se encuentra en el plásmido PV-GHGT35, pero se localiza fuera de los bordes del T-DNA. Por lo tanto, no se esperaba que se transfirieran al genoma del algodón y su ausencia en **RF** se ha confirmado mediante análisis moleculares (**ANEXO 6. Evaluación Solución Faena Flex FDA**).

Proteína AAD

El gen de resistencia a antibióticos *aad* fue aislado del transposón bacteriano Tn7 y confiere resistencia a los antibióticos espectinomycin y estreptomycin (Davies y Benveniste, 1974). Este gen codifica la expresión de la enzima 3'(9)-O-aminoglicósido adenililtransferasa (AAD) y está bajo el control de su propio promotor bacteriano. El gen *aad* no se expresa en las plantas de algodón GM debido a que su promotor bacteriano no es activo en plantas y los elementos reguladores necesarios para su expresión en las plantas no fueron adicionados a la construcción. El gen *aad* fue usado en el laboratorio, en la fase previa a la transformación genética de las células de algodón, para seleccionar las bacterias que contenían el plásmido con el DNA de interés. En la **Figura 7** se presenta la secuencia de aminoácidos de la proteína AAD.

Debido a que el algodón **RF** contiene dos copias de la enzima CP4 EPSPS, la cual le confiere resistencia al herbicida no selectivo glifosato, no fue necesario utilizar genes de selección adicionales en la construcción, porque la proteína CP4 EPSPS actúa como marcador de selección por sí misma. Esto es, las células resistentes a glifosato fueron exitosamente transformadas y ahora poseen la proteína bacteriana que les confiere la resistencia.

Por último, se tiene la autorización por parte de la Secretaria de Salud de México para los diferentes eventos de algodón biotecnológico que garantizan su inocuidad para consumo humano y animal.

I.s. Número de generaciones que mostraron estabilidad en la herencia del transgén

El evento **RF** se desarrollo vía transformación con *Agrobacterium tumefaciens* para insertar un constructo con doble copia del gen *cp4 epsps* que codifica la enzima CP4 EPSPS. La estabilidad del inserto en **RF** ha sido comprobada por métodos científicos estándares.

Se realizó un análisis de hibridación Southern a lo largo de cinco generaciones de algodón **RF**. Durante los ensayos, se comprobó que este evento contiene una sola copia del inserto en un solo locus de integración, el cual a su vez contiene dos copias intactas del gen *cp4 epsps* y no se encontraron secuencias adicionales del plásmido usado en la

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

transformación. Además, se realizaron análisis de PCR y secuenciación para identificar los sitios de inserción y las regiones flanqueantes 5' y 3' del genoma del algodón, adyacentes a la construcción. Esto confirma la organización correcta de los elementos de la construcción y la estabilidad del evento en múltiples generaciones (**ANEXO 5. MSL-19580 Análisis Molecular de RF**).

También se realizó un análisis de segregación en el que se ha observado un patrón de herencia Mendeliana de la característica de tolerancia a glifosato después de autopolinización o retrocruzamiento del evento **RF** con otras variedades de algodón. Además, la tolerancia al glifosato se ha mantenido durante el desarrollo de este evento desde sus inicios a la fecha, al igual que la calidad de la semilla que se ha mantenido después de la transferencia de la construcción con dos copias del gen *cp4 epsps* dentro de distintas variedades comerciales.

En resumen, se concluye que el DNA insertado en los eventos de algodón **RF**, se integró de manera estable y la característica conferida es fenotípica y genéticamente estable a través de varias generaciones y condiciones ambientales. La estabilidad genética se puede confirmar también por la exitosa comercialización de las variedades de algodón **RF**.

Teniendo en cuenta la información sobre la integración del material genético insertado, estabilidad de número de copias, segregación mendeliana de los rasgos a través de múltiples generaciones y después cruzamiento con múltiples variedades para condiciones ambientales y agronómicas distintas; podemos concluir que la característica de tolerancia a glifosato es estable en el evento **RF**. **Ver carpeta de Caracterización Molecular-Secuencias en el CD adjunto a este documento.**

La recombinación es poco probable

Es poco probable que ocurra recombinación en el inserto de ADN en el evento **RF** (MON-88913-8). Este hecho es apoyado por los estudios de estabilidad genética que muestran que se ha encontrado el evento MON-88913-8 por varias generaciones en el mismo sitio de inserción sin diferencias en los patrones de bandas observados.

Si se llevara a cabo la recombinación, ésta afectaría secuencias genéticas localizadas en diferentes lugares del ADN genómico y, muy probablemente, resultaría en translocaciones cromosomales con consecuencias letales o al menos disminución de la capacidad de supervivencia para las células afectadas y su progenie. Además, tales rearrreglos tendrían que suceder en una fase temprana del desarrollo de la planta o la semilla para tener efectos significativos. Mientras más tarde ocurra, menor será el número de células vegetales afectadas. Dado que este tipo de recombinación es poco probable y tiene muchas posibilidades de producir líneas celulares no viables, es extremadamente poco probable que el producto recombinado origine alguna línea celular reproductiva.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

No se espera aumento de riesgos producto de recombinación potencial

En el caso altamente improbable en el cual ocurriera recombinación, que involucrara el inserto en el evento **RF** (MON-88913-8), la única consecuencia posible sería la modificación del nivel de expresión de los genes afectados y no una modificación de la calidad de la proteína producida. Incluso si este evento hipotético sucediera, afectaría sólo unas pocas semillas y, por lo tanto, la cantidad total de proteínas resultantes de este raro evento seguirían siendo extremadamente bajas y el nivel de exposición a dichas proteínas no cambiaría significativamente. Debido a la seguridad demostrada de la proteína recombinante introducida en **RF**, el riesgo que podría surgir de esta recombinación hipotética es insignificante.

Conclusión

Tomando en cuenta el bajísimo potencial de recombinación entre los insertos en el evento **RF**, la estabilidad de los elementos genéticos por varias generaciones, la viabilidad e idoneidad seriamente comprometidas de las células afectadas por el evento hipotético de translocación genómica, y la seguridad demostrada de la proteína introducida en este evento, el riesgo de tal recombinación es descartable. Se concluye que el DNA insertado en el algodón MON-88913-8 se integró de manera estable y la característica conferida es fenotípica y genéticamente estable a través de varias generaciones y condiciones ambientales. **Ver carpeta de Caracterización Molecular-Secuencias en el CD adjunto a este documento.**

I.t. Referencia bibliográfica sobre los datos presentados

Alibhai, M. and Stallings, W.C. 2001. Closing down on glyphosate inhibition with a new structure for drug discovery. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:2944-6.

ANZFA (Australian New Zealand Food Authority). 2001. Food safety: the priority classification system for food business. Lkd.

Bairoch, A. and B. Boeckmann. 1993. "The SWISS-PROT Protein Sequence Data Bank, Recent Developments." *Nucl. Acids Res.* 21:3093-3096.

Baker, H. G., 1965. Characteristics and modes of origin of weeds. *In*: H. G. Baker & G. L. Stebbins (eds.), *The Genetics of Colonizing Species*. Academic Press, New York, pp. 147-172.

Barry, G., G. Kishore, S. Padgett, M. Taylor, K. Kolacz, M. Weldon, D. Re, D. Eichholtz, K. Fincher, and L. Hallas. 1992. Inhibitors of amino acid biosynthesis: strategies for imparting glyphosate tolerance to crop plants. *In* *Biosynthesis and Molecular Regulation of Amino Acids in Plants*, pp. 139-145. Edited by Singh, B.K., Flores, H.E., and Shannon, J.C. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Barry, G.F., Kishore, G.M., Padgett, S.R. and Stallings, W.C. (1997) Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. *United States Patent, No. 5,633,435.*

Bartlett, S.G., Grossman, A.R., Chua, N.H., Edelman, M., Hallick, R.B., Chua, N.H. (1982). *Methods in chloroplast molecular biology.* Elsevier, Amsterdam.

Benson, D., D. J. Lipman, and J. Ostell. 1993. "GenBank". *Nucl. Acids Res.* 21:2963-2965.

Brubaker CL, Paterson AH, Wendel JF (1999) Comparative genetic mapping of allotetraploid cotton and its diploid progenitors. *Genome* 42:184–203.

Brubaker, C.L. and J.F. Wendel. 1994. Reevaluating the origin of domesticated cotton (*Gossypium hirsutum*; Malvaceae) using nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). *Am. J. Bot.* 81(10):1309-1326.

Chua, N.H., and G.W. Schmidt. 1978. Post-translational transport into intact chloroplasts of a precursor to the small subunit of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* 75:6110-6114.

Corruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards, and N. Chua. 1984. Tissue-specific and Light-regulated Expression of a Pea Nuclear Gene Encoding the Small Subunit of Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase. *EMBO J.* 3:1671-1679.

CTIC (Conservation Technology Information Center). 2000. Top ten benefits. Conservation Technology Information Center, West Lafayette, Indiana.

Davies, J.E., Benveniste, R.E. (1974). Enzymes that inactivate antibiotics in transit to their targets. *Annals of the New York Academy of Sciences* 235: 130-136.

della-Cioppa, G., Bauer, S. C., Klein, B. K., Shah, D. M., Fraley, R. T., & Kishore, G. M. 1986. "Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants in vitro", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 83, no. 18, pp. 6873-6977.

Duke, S. O. 1988. Glyphosate. p. 1-70. in Kearney, P. C. and D. D. Kaufman, eds. *Herbicides – Chemistry, Degradation, and Mode of Action.* Dekker, New York.

Franz, J., M.K. Mao, and J.A. Sikorski. 1997. Glyphosate: a unique global herbicide. *ACS Monograph Chapter 3:27-65.*

Fryxell, P. A. 1984. Taxonomy and Germplasm Resources. pp. 27-57. In Kohel, R. J. and Lewis, C. F., Editors. *Cotton.* American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin. 605 pp.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- Fuchs, R.L. 1994. "Gene Expression and Compositional Analysis from Field-Grown Insect Resistant Cotton Tissues" (1994), Study Number 92-01-36-07, an unpublished study conducted by Monsanto Company. EPA MRID#43168701.
- Gowda, S., Wu, F.C. & Shepard, R.J. 1989. Identification of promoter sequences for the major RNA transcripts of figwort mosaic and peanut chlorotic streak viruses (caulimovirus group). *J. Cell. Biochem.* 13D (supplement), 301.
- Harrison, L., M. Bailey, M. Naylor, J. Ream, B.G. Hammond, D. Nida, y B. Burnette. 1996. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice. *Journal of Nutrition* 126:728-740.
- Haslam, E. 1974. The shikimate-pathway. John Wiley and sons.
- Hooykaas, P.J.J. and Shilperoort, R.A. 1992. *Agrobacterium* and plant genetic engineering. *Plant Molecular Biology* 19: 15-38.
- Kishore, G.M., and D.M. Shah. 1988. Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. *Annu. Rev. Biochem.* 57:627-63.
- Klee, H. J., Muskopf, Y. M., & Gasser, C. S. 1987, "Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants", *Molecular and General Genetics*, vol. 210, no. 3, pp. 437-442.
- Lubben, T.H., S.M. Theg, and K. Keegstra. 1988. Transport of proteins into chloroplasts. *Photosyn. Res.* 17:173-194.
- Milton Poehlman, John; David Allen Sleper. 1995. *Breeding field crops* Fourth Edition. Iowa State University Press/Ames.
- Mishkind, K.L., S.R. Wessler, and G.W. Schmidt. 1985. Functional determinants in transit sequences: import and partial maturation by vascular plant chloroplasts of the ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase small subunit of *Chlamydomonas*. *J. Cell Biology* 100:266-230.
- Naylor, M. W., (1993) Acute Oral Toxicity Study of CP4 EPSPS Protein in Albino Mice, Monsanto Technical Report, MSL-13077.
- Olins, P.O.; Devine, C.S.; Rangwala, S.H. and Kavka, K. S. 1988. The T7 phage gene 10 leader RNA, a ribosome-binding site that dramatically enhances the expression of foreign genes in *Escherichia coli*. *Gene* Volume 73, Issue 1, 15, Pages 227-235.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Palomo Gil, Arturo. 1996. Distribución, colecta y uso de las especies silvestres de algodón en México. *Revista Ciencia Páginas* 359-369. Academia Mexicana de Ciencias. México, D.F.

Percival, A.E., Wendel, J.F. and Stewart, J.M. (1999) Taxonomy and germplasm resources. *Cotton: origin, history, technology, and production.*

Richins, R.D., Scholthof, H.B. and Shepherd, R.J. (1987) Sequence of figwort mosaic virus DNA (caulimovirus group). *Nucleic Acids Res*, **15**, 8451-66.

Rieger, R., A. Michaelis, and M.M. Green. 1976. Glossary of Genetics and Cytogenetics. Classical and Molecular. Fourth edition. Springer-Verlag, New York, NY. Pp. 20, 474, 510-511, 523.

Ruiz-Corral, J.A.; Medina-García, G.; Ortiz-Trejo, C.; Martínez-Parra, R.; González Acuña, I.J.; Flores-López, H.; Byerly-Murphy, K.F. 1999. Requerimientos agroecológicos de cultivos. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro, INIFAP, SAGAR. Guadalajara, Jal., México.

Sanger M, Daubert S and Goodman RM. 1990. Characteristics of a strong promoter from figwort mosaic virus – comparison with the analogous-35s promoter from cauliflower mosaic virus and the regulated mannopine synthase promoter. *Plant Mol Biol* 14: 433–443.

Schmidt, G.W., and M.L. Mishkind. 1986. The transport of proteins into chloroplasts. *Ann. Rev. Biochem.* 55:879-912.

Schulz, A., A. Kruper, y N. Amrhein. 1985. Differential sensitivity of Bacterial 5-enolpyruvylshikimate-3-Phosphate synthases to the herbicide glyphosate. *FEMS microbiol. lett* 28:297-301.

Silvanovich, A., T.C. Lee, J.J. Thorp, and J.D. Astwood. 2001. Partial purification and N-terminal sequence analysis of CP4 EPSPS protein produced in Roundup Ready maize event NK603. Monsanto Technical Report MSL 17455.

Smith C.W., R.G. Cantrell, H.S. Moser, and S.R. Oakley. 1999. In: *Cotton: Origin, History, Technology and Production.* W.C. Smith and J.T. Cothren (eds.). John Wiley and Sons, New York, NY. Pp. 143-154.

Steinrucken, H. C. & Amrhein, N. 1980, "The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphate synthase", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 94, no. 4, pp. 1207-1212.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Talipov, Ferdinand S.; Salgado Uriostegui, F.; Catalan Heverastico, C.; Domínguez Marquez, V.; Bahena Lagunas, M. 1995. El cultivo del algodón y su mejoramiento genético en el estado de Guerrero. Universidad Autónoma de Guerrero. Dirección de Investigación Científica.

Tempe, J. & Schell, J. *In: Translation of Natural and Synthetic Polynucleotides*, A.B. Legocki, Ed. (Poznan University of Agriculture, Poznan, Poland, 1977) p.416.

Trolinder, N. L. and J.R. Goodin. 1987. Somatic embryogenesis and plant regeneration in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Plant Cell Reports*. 6:231-234.

Ulloa, M.; Stewart, J.McD.; Garcia-C, E.A.; Godoy-A., S; Gaytan-M, A.; and Acosta N., S.; 2006. Cotton genetics resources in the western states of Mexico: *in situ* conservation status and germplasm collection for *ex situ* preservation. *Genetics Resources and Crop Evolution* (2006) 53: 653 - 668.

Umbeck, P., G. Johnson, K. Barton, and W. Swain. 1987. Genetically transformed cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants. *Bio/Technology*. 5:263-266.

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

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

La semilla de algodón **RF** se sembrará en campos de agricultores participantes en la **Etapa Experimental** y las prácticas culturales y agronómicas se realizarán siguiendo las prácticas comerciales de producción de algodón y/o las guías técnicas para el cultivo del algodón desarrolladas por investigadores del INIFAP en la región (**Tabla 5**).

Para el ciclo **PV-2013** se tiene contemplado sembrar **2,500** hectáreas de algodón **RF** en la región de **Tamaulipas Sur** a partir del mes de junio de 2013 (**Cuadro 2**), para lo cual se solicita el mismo polígono que el ciclo anterior (**Figura 10**) en **Etapa Experimental** y que fue aprobado por la autoridad (PV-2012). Esta es la segunda solicitud de liberación al ambiente para esta tecnología en la parte sur del Estado de Tamaulipas. Sin embargo, en esta misma solicitud se solicitan **3 polígonos de liberación (B, C y D)** para la tecnología **RF** en **Etapa Experimental** en el norte del Estado de Tamaulipas (**Figura 11**) que corresponden a áreas agrícolas. Estos polígonos fueron aprobados para el ciclo PV-2012 en Etapa Experimental.

Al respecto aclaramos que la región de **Tamaulipas Norte (Figura 12)** está actualmente en Programa Piloto (PV-2012) y para el ciclo PV-2013 se solicitó Permiso de Liberación al Ambiente en Etapa Comercial (**Documento 852-2012-MON-REG6**, solicitud **086_2012**).

Actualmente los polígonos de **B2RF** y **RF** para la región de Tamaulipas Norte no son idénticos (**Figura 13**) (el polígono de **B2RF** es más grande que el de **RF**), lo cual causa dificultades a la hora de establecer el refugio (**RF**) para la tecnología **B2RF**. Esta problemática se deriva de errores en las Tablas de Coordenadas al fusionar los polígonos de Monsanto y Bayer para la tecnología **B2RF** en Tamaulipas Norte durante las solicitudes del ciclo PV-2011. Dicha fusión de polígonos fue posible debido a que tanto Monsanto como Bayer han liberado la tecnología **B2RF** en la región de Tamaulipas Norte. Sin embargo, derivado de que sólo Monsanto ha liberado la tecnología **RF** en Tamaulipas Norte el polígono es más pequeño el de **B2RF**.

Para resolver esta situación de polígonos diferentes para las dos tecnologías, es que se incluyen los polígonos B, C y D (**Figura 11**) de la región de Tamaulipas Norte en esta solicitud de Tamaulipas Sur, ya que pertenecen al mismo Estado. De esta manera, podemos homogenizar las áreas de liberación para las dos tecnologías en Tamaulipas Norte y resolver los posibles problemas de establecimiento de refugio (**Figuras 11-13**). Además, en cada región

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

se seguirán los tiempos de siembra de acuerdo al periodo oficial de siembra establecido por la Delegación Estatal de la SAGARPA. De esta manera la fecha de siembra en Tamaulipas Norte es del 15 de febrero al 15 de marzo y en Tamaulipas Sur es del 1 de junio al 20 de julio.

Cuadro 2. Cantidad de OGM (RF) a liberar.

REGIÓN PROPUESTA PARA EL PROGRAMA	CICLO	SUPERFICIE TOTAL DE LOS PREDIOS (Ha)	FECHA DE IMPORTACIÓN DE SEMILLA	PERIODO DE SIEMBRA	CANTIDAD DE SEMILLA REQUERIDA (kg)*
TAMAULIPAS SUR	PV - 2013	2,500	MAYO DE 2013	JUNIO DE 2013	35,938

*Densidad de siembra promedio: 14 Kg/ha.

Tabla 5. Prácticas agronómicas para el manejo del cultivo del algodón RF y convencional en la región de Tamaulipas Sur.

Prácticas agronómicas	Algodón RF	Convencional
Preparación del terreno		
Subsoleo	Inmediatamente después de la cosecha anterior	Inmediatamente después de la cosecha anterior
Barbecho	Inmediatamente después del subsoleo	Inmediatamente después del subsoleo
Rastro	Inmediatamente después del barbecho	Inmediatamente después del barbecho
Nivelación	Después del barbecho	Después del barbecho
Época de siembra	1 de junio al 20 de julio	1 de junio al 20 de julio
Método de siembra	Siembra en húmedo o "a tierra venida"	Siembra en húmedo o "a tierra venida"
Densidad de siembra	14 Kg/ha	14 Kg/ha
Riegos	Cinco riegos de auxilio en las etapas fenológicas de: inicio de floración, máxima producción de botones florales, máxima producción de bellotas e inicio de capullos. Calendario de riego: a los 60, 80, 100 y 120 días; o bien a los 50, 70, 90, 110 y 130 días posteriores a la siembra	Cinco riegos de auxilio en las etapas fenológicas de: inicio de floración, máxima producción de botones florales, máxima producción de bellotas e inicio de capullos. Calendario de riego: a los 60, 80, 100 y 120 días; o bien a los 50, 70, 90, 110 y 130 días posteriores a la siembra
Fertilización	Al momento de la siembra e inmediatamente antes del primer riego de auxilio	Al momento de la siembra e inmediatamente antes del primer riego de auxilio
Labores de cultivo		
CONTROL DE MALEZA*	Control de maleza durante el periodo crítico de competencia durante los 30 a 75 días después de la emergencia del algodón mediante la aplicación total postemergente del herbicida Faena Fuerte con Transorb® complementado con labores culturales.	Control de maleza durante el periodo crítico de competencia durante los 30 a 75 días después de la emergencia del algodón mediante el uso herbicidas preemergentes residuales, herbicidas postemergentes y control mecánico y/o manual.
Control de plagas		
INSECTOS LEPIDÓPTEROS	Insecticidas	Insecticidas
Otras plagas	Insecticidas	Insecticidas
Defoliación	Aplicar el defoliante cuando la planta tenga más del 50% de capullos	Aplicar el defoliante cuando la planta tenga más del 50% de capullos
Cosecha	Dos pizcas: la primera a los 25 días después de la aparición de los primeros capullos y la segunda 25 días después de la anterior.	Dos pizcas: la primera a los 25 días después de la aparición de los primeros capullos y la segunda 25 días después de la anterior.
Desvare	Inmediatamente después de la última pizca	Inmediatamente después de la última pizca

* Estas son las únicas prácticas que difieren en el manejo agronómico del algodón Solución Faena Flex® con relación al algodón convencional.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR**, PRIMAVERA – VERANO 2013.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

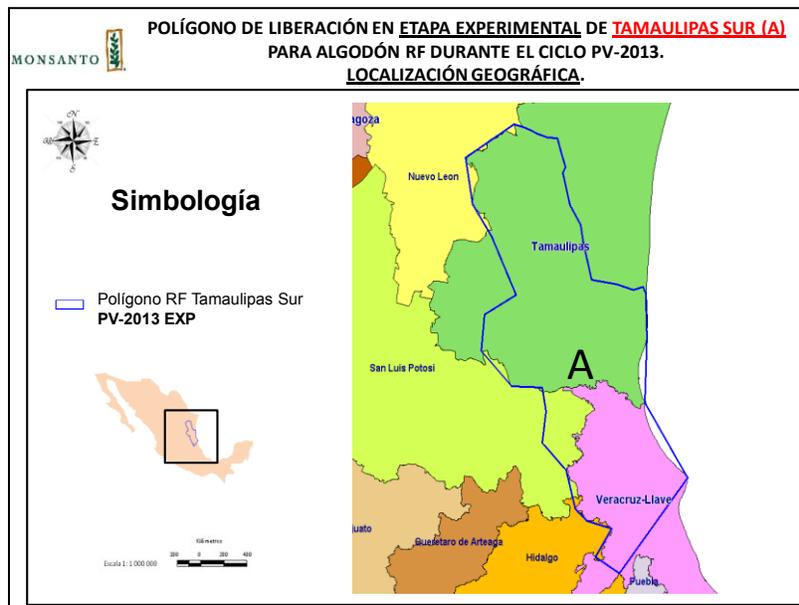


Figura 10. Localización geográfica del Polígono A, propuesto para la liberación de la tecnología RF en la región de Tamaulipas Sur durante el ciclo agrícola PV-2013 en Etapa Experimental.

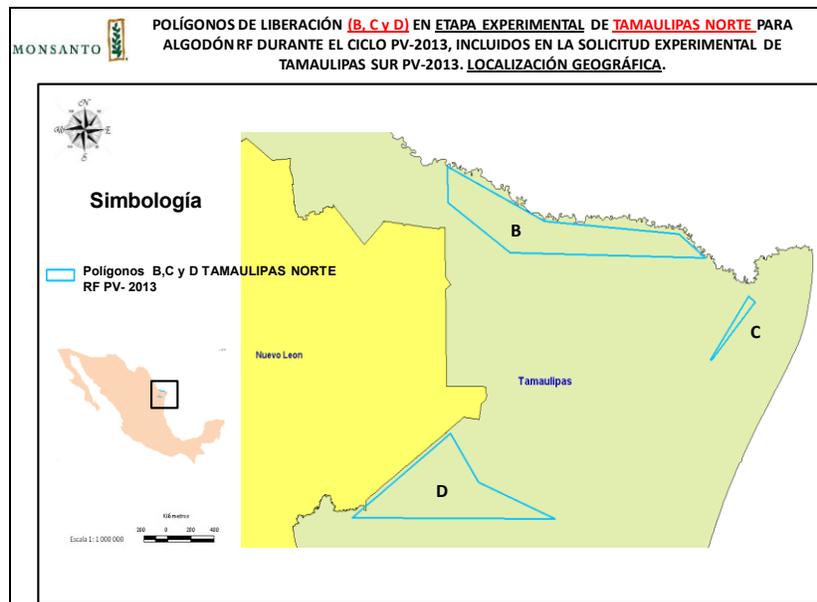


Figura 11. Localización geográfica de los Polígonos B, C y D propuestos para la liberación de la tecnología RF en Tamaulipas Norte en Etapa Experimental, incluidos en la solicitud experimental de la región de Tamaulipas Sur, durante el ciclo agrícola PV-2013.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

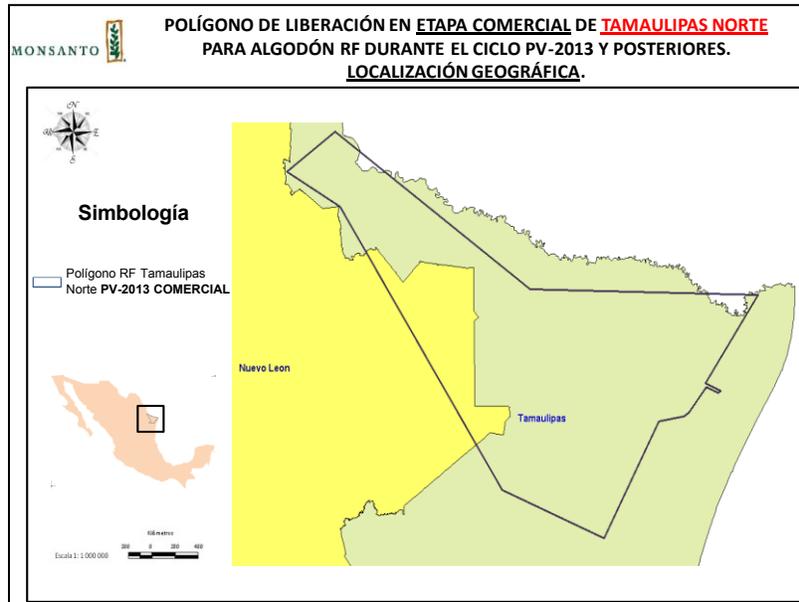


Figura 12. Localización geográfica del Polígono de Tamaulipas Norte propuesto para la liberación en Etapa Comercial de la tecnología RF, durante el ciclo agrícola PV-2013.

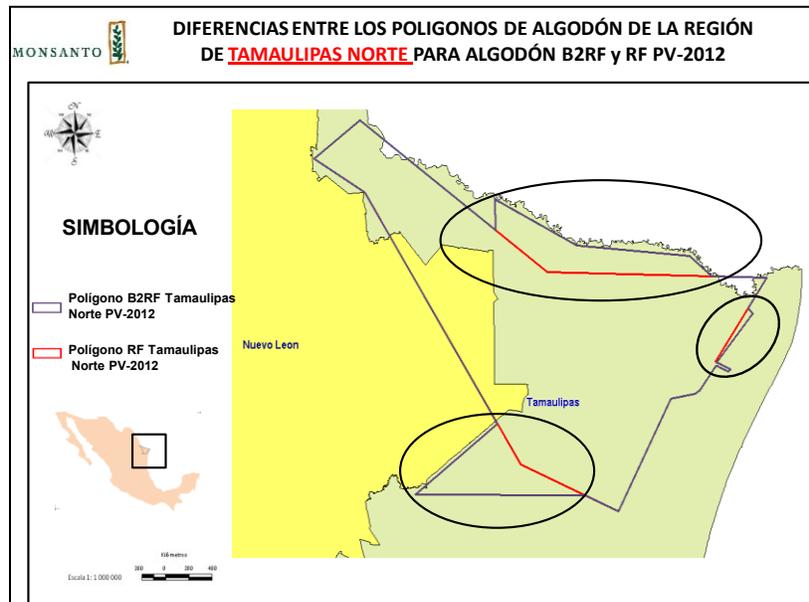


Figura 13. Diferencias entre los polígonos de las tecnologías B2RF y RF en la región de Tamaulipas Norte durante el ciclo agrícola PV-2012.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

II.b. Ubicación del polígono o polígonos donde se realizará la liberación

En la **Figura 10** se presenta un mapa que describe el **polígono de liberación A** propuesto para la región de Tamaulipas Sur para el ciclo PV-2013 en Etapa Experimental. Además, se solicita la aprobación de 3 polígonos (**B, C y D**) localizados en el norte del Estado de Tamaulipas (**Figura 11**) que se incluyen en esta Solicitud de Tamaulipas Sur. La finalidad de solicitar estos tres polígonos es homogenizar la superficie de liberación de algodón biotecnológico (**B2RF** y **RF**) en la región de Tamaulipas Norte, resolviendo así la problemática del establecimiento de áreas de refugio (algodón **RF**) para la reproducción de lepidópteros no expuestos a las proteínas Cry expresadas en el algodón **B2RF** (**Ver punto II.a. Superficie total del polígono o polígonos donde se realizará la liberación y Figuras 11-13**).

Se presentan las **Tablas 6-9** con las coordenadas geográficas y en UTM de los polígonos A, B, C y D propuestos en la presente solicitud.

Tabla 6. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono A de la región de Tamaulipas Sur propuesto para la liberación de algodón *RF* durante el ciclo PV-2013.

Coordenadas del polígono A Tamaulipas Sur PV-2013 EXPERIMENTAL				
Vértice	Longitud (LL84)	Latitud (LL84)	Longitud X (UTM84-14N)	Latitud Y (UTM84-14N)
1	-99.2082	24.8650	478965.4818	2750020.425
2	-99.1134	24.8404	488544.0466	2747283.276
3	-99.0342	24.8087	496544.0452	2743771.555
4	-98.9549	24.7771	504559.0555	2740268.435
5	-98.8987	24.7588	510237.2026	2738249.771
6	-98.8426	24.7406	515917.0148	2736233.437
7	-98.7379	24.7322	526503.6392	2735323.708
8	-98.6919	24.5794	531199.8081	2718409.376
9	-98.6469	24.4646	535787.5121	2705709.953
10	-98.6781	24.4103	532635.5728	2699693.895
11	-98.6010	24.1128	540551.5948	2666772.542
12	-98.4851	23.9213	552405.8996	2645606.567
13	-98.4578	23.7740	555239.7328	2629306.571
14	-98.3669	23.4101	564687.0876	2589057.452
15	-98.0942	23.3661	592574.1821	2584342.625
16	-97.9130	23.3149	611144.6304	2578799.588
17	-97.8081	23.3456	621844.1998	2582277.890
18	-97.7772	23.2750	625065.7307	2574487.022
19	-97.7702	22.9703	626070.2059	2540755.279

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Coordenadas del polígono A Tamaulipas Sur PV-2013 EXPERIMENTAL				
Vértice	Longitud (LL84)	Latitud (LL84)	Longitud X (UTM84-14N)	Latitud Y (UTM84-14N)
20	-97.7673	22.8945	626436.4995	2532366.733
21	-97.7895	22.2626	624728.3260	2462394.686
22	-97.3444	21.5879	671403.9135	2388129.543
23	-97.3221	21.5609	673741.8749	2385155.794
24	-98.0660	20.6647	597287.9657	2285323.955
25	-98.3264	20.8195	570096.4737	2302318.226
26	-98.1509	21.0855	588193.1510	2331845.117
27	-98.4113	21.1528	561120.3996	2339176.166
28	-98.5439	21.2646	547317.1625	2351498.629
29	-98.6430	21.6299	536949.1107	2391908.905
30	-98.9027	21.8822	510055.8511	2419787.700
31	-98.8635	22.1757	514071.5325	2452281.645
32	-98.9014	22.4048	510148.9070	2477633.228
33	-99.2324	22.4126	476085.2910	2478519.012
34	-99.5641	22.7460	442081.1507	2515515.564
35	-99.5251	23.0838	446219.8283	2552898.404
36	-99.1834	23.2690	481243.6267	2573315.574
37	-99.4500	23.8164	454161.9143	2633972.810
38	-99.6571	24.1180	433227.7218	2667446.960
39	-99.7330	24.5540	425769.3204	2715760.572

Tabla 7. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono B de Tamaulipas Norte incluido en la Solicitud Experimental de la región de Tamaulipas Sur para la liberación de algodón *RF* durante el ciclo PV-2013.

Coordenadas del polígono B Tamaulipas Norte PV-2013 EXPERIMENTAL				
Vértice	Longitud (LL84)	Latitud (LL84)	Longitud X (UTM84-14N)	Latitud Y (UTM84-14N)
1	-98.5766	26.2310	542290.9051	2901335.105
2	-98.1950	26.0449	580529.5170	2880903.528
3	-97.6680	26.0027	633307.8504	2876662.274
4	-97.5646	25.9230	643756.3735	2867939.725
5	-98.3303	25.9393	567057.3693	2869133.155
6	-98.5737	26.1091	542628.3209	2887831.687

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Tabla 8. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono C de Tamaulipas Norte incluido en la Solicitud Experimental de la región de Tamaulipas Sur para la liberación de algodón RF durante el ciclo PV-2013.

Coordenadas del polígono C Tamaulipas Norte PV-2013 EXPERIMENTAL				
Vértice	Longitud (LL84)	Latitud (LL84)	Longitud X (UTM84-14N)	Latitud Y (UTM84-14N)
1	-97.3956	25.7927	660856.7125	2853705.939
2	-97.3706	25.7734	663391.9131	2851600.0970
3	-97.5405	25.5758	646596.7391	2829514.045
4	-97.5453	25.5780	646109.0959	2829752.272
5	-97.3956	25.7927	660856.7125	2853705.939

Tabla 9. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono D de Tamaulipas Norte incluido en la Solicitud Experimental de la región de Tamaulipas Sur para la liberación de algodón RF durante el ciclo PV-2013.

Coordenadas del polígono D Tamaulipas Norte PV-2013 EXPERIMENTAL				
Vértice	Longitud (LL84)	Latitud (LL84)	Longitud X (UTM84-14N)	Latitud Y (UTM84-14N)
1	-98.5649	25.3290	543793.2197	2801452.693
2	-98.4549	25.1637	554933.3268	2783181.558
3	-98.1539	25.0400	585356.8031	2769641.615
4	-98.9488	25.0451	505164.6901	2769942.598

En las **Figuras 14-15** se muestran los **Municipios** incluidos en los Polígonos **A, B, C y D**. En las **Figuras 16-17** se muestran los **Distritos de Desarrollo Rural** comprendidos en los Polígonos **A, B, C y D**. En las **Figuras 18-19** se muestran las **Zonas Agrícolas** distribuidas en los Polígonos **A, B, C y D**, y en las **Figuras 20-21** se muestra que en los Polígonos propuestos no se encuentran **Áreas Naturales Protegidas**. Se anexan **Tablas 6-9** con las Coordenadas de los Polígonos A, B, C y D de la presente solicitud.

ANEXO 7. Tabla con Coordenadas del Polígono A de Tamaulipas Sur RF PV-2013 Experimental (Tabla 6).

ANEXO 8. Tabla con Coordenadas del Polígono B de Tamaulipas Norte RF PV-2013 Experimental, incluido en la Solicitud de Tamaulipas Sur (Tabla 7).

ANEXO 9. Tabla con Coordenadas del Polígono C de Tamaulipas Norte RF PV-2013 Experimental, incluido en la Solicitud de Tamaulipas Sur (Tabla 8).

ANEXO 10. Tabla con Coordenadas del Polígono D de Tamaulipas Norte RF PV-2013 Experimental, incluido en la Solicitud de Tamaulipas Sur (Tabla 9).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Para el ciclo **PV-2013** en **Etapa Experimental** se solicita una superficie potencial para siembra de **2,500 hectáreas (Cuadro 2, página 59)**, abarcando los polígonos propuestos en la presente solicitud, donde iniciará la siembra de algodón a partir del mes de **febrero en Tamaulipas Norte y junio en Tamaulipas Sur 2013**. Esto debido al compromiso de Monsanto por contribuir al crecimiento de la superficie algodонера nacional a un total de 400,000 hectáreas en los próximos años. Dicha meta se refiere al consenso alcanzado con el Consejo Nacional de Productores de Algodón, A. C. y el Comité Nacional Sistema Producto Algodón, A. C. con lo cual sería posible alcanzar la autosuficiencia de fibra de algodón en México durante los próximos 3 a 5 años.

El **Polígono A** incluye áreas agrícolas en los municipios de **Abasolo, Aldama, Altamira, Casas, Cd. Madero, Gómez, González, Hidalgo, Jiménez, Llera, Mainero, Nuevo Morelos, Ocampo, Padilla, San Carlos, San Nicolás, Victoria y Xicoténcatl** en el Estado de **Tamaulipas**; **Cerro Azul, Chalma, Chinampa de Gorostiza, Ilatlán, Ozuluama de Mascareñas, Pánuco, Tamalín, Tampico Alto, Tancoco y Tempoal** en el Estado de **Veracruz** y; **Ébano, San Vicente Tancuayalab y Tamuín** en el Estado de **San Luis Potosí**.

El **Polígono B** incluye áreas agrícolas en los municipios de **Gustavo Díaz Ordaz, Matamoros, Reynosa, Río Bravo y Valle Hermoso** en el Estado de **Tamaulipas**. El **Polígono C** incluye áreas agrícolas en el municipio de: **Matamoros** en el **Estado de Tamaulipas**. Y el **Polígono D** incluye áreas agrícolas en los municipios de: **Burgos, Méndez y San Fernando** en el **Tamaulipas**.

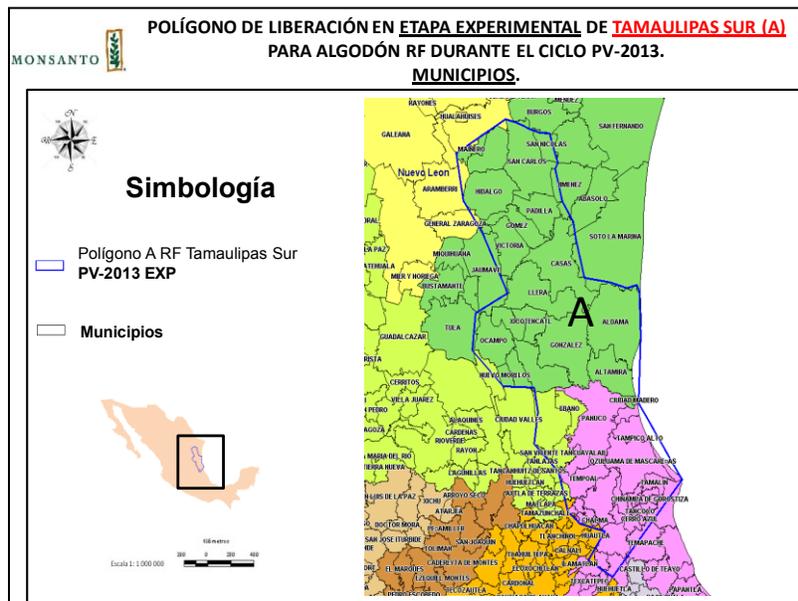


Figura 14. Municipios comprendidos en el Polígono de liberación A, propuesto para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón RF en la región de Tamaulipas Sur.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

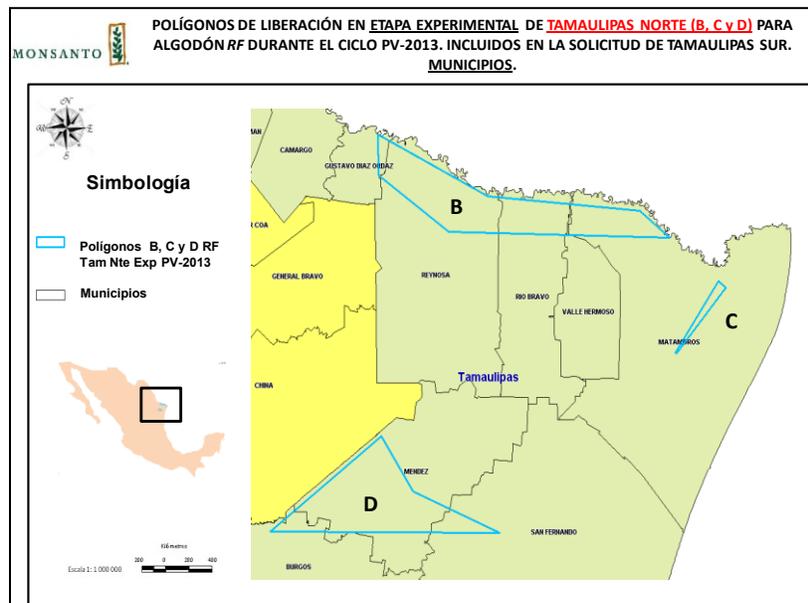


Figura 15. Municipios comprendidos en los Polígonos de liberación B, C y D propuestos para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón RF en Tamaulipas Norte, parte de la Solicitud de Tamaulipas Sur.

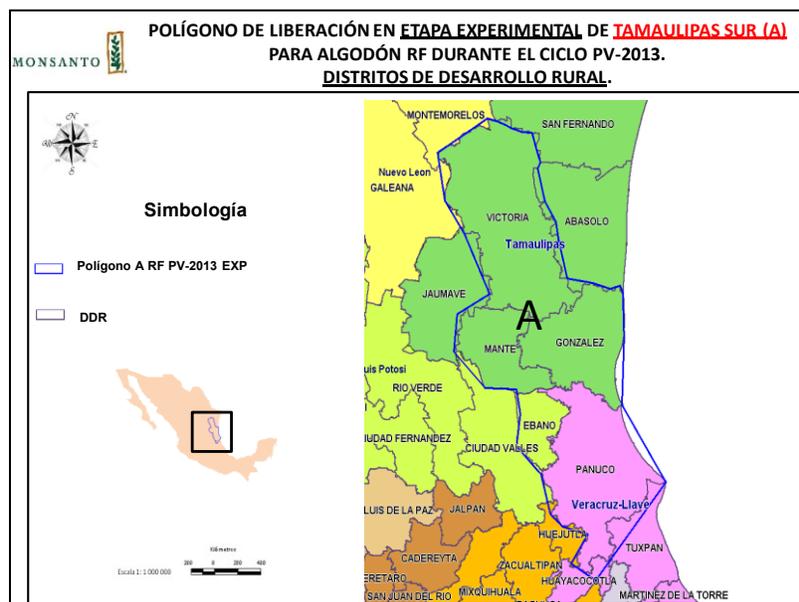


Figura 16. Distritos de Desarrollo Rural comprendidos en el Polígono de liberación A, propuesto para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón RF en la región de Tamaulipas Sur.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

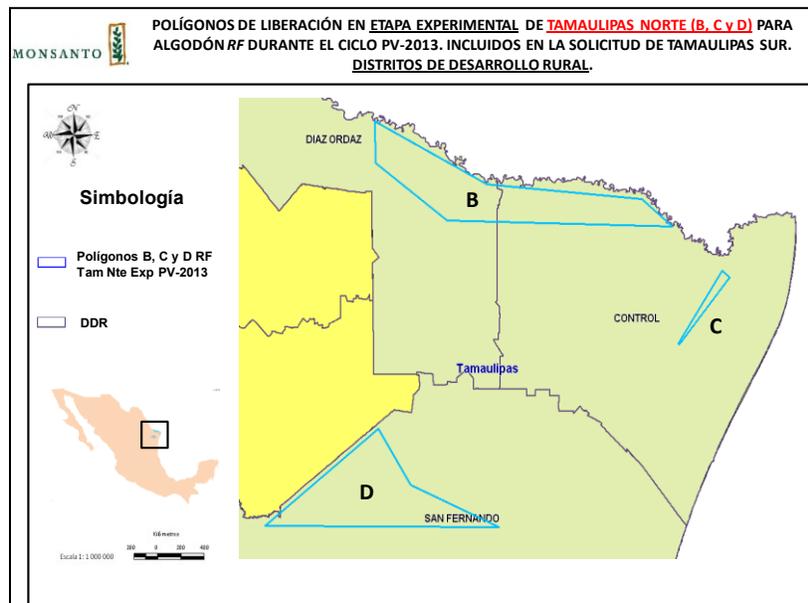


Figura 17. Distritos de Desarrollo Rural comprendidos en los Polígonos de liberación B, C y D propuestos para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón RF en Tamaulipas Norte, parte de la Solicitud de Tamaulipas Sur.

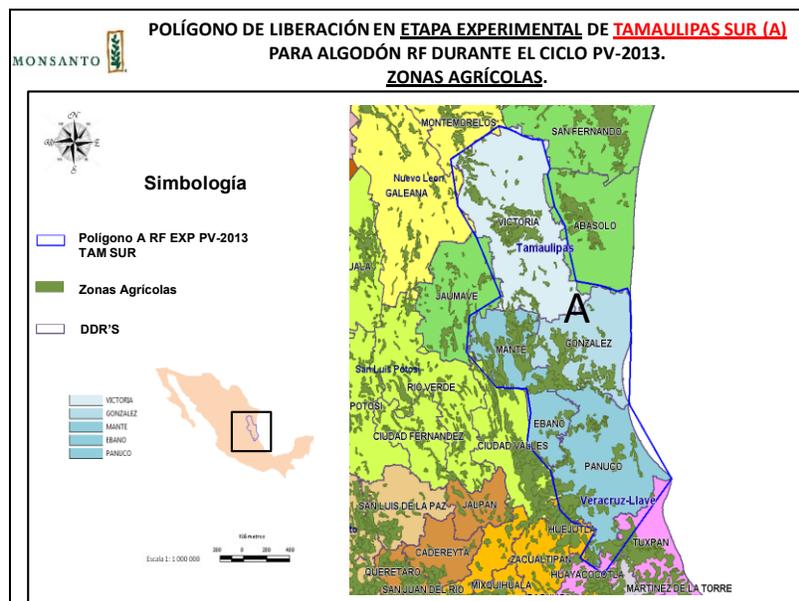


Figura 18. Zonas agrícolas comprendidas en el Polígono de liberación A, propuesto para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón RF en la región de Tamaulipas Sur.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

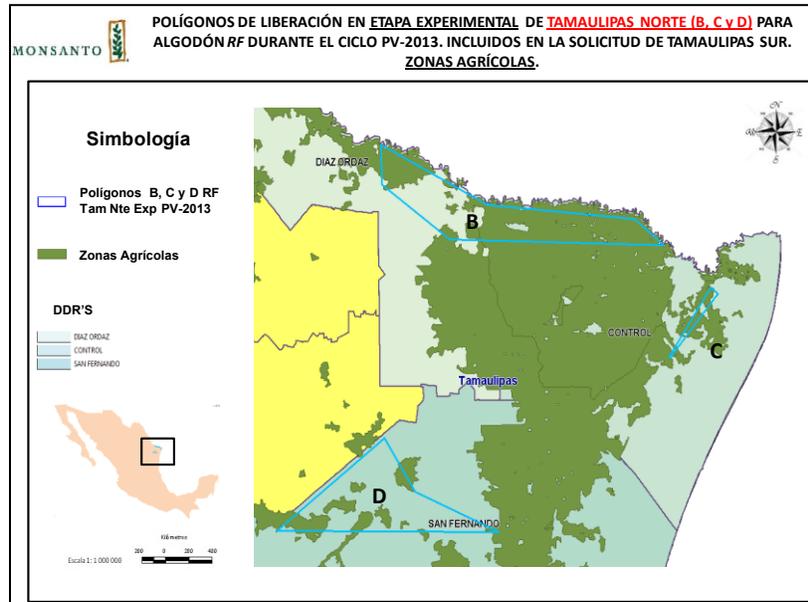


Figura 19. Zonas agrícolas comprendidas en los Polígonos de liberación B, C y D propuestos para la Etapa Experimental durante el ciclo PV-2013 del algodón RF en Tamaulipas Norte, parte de la Solicitud de Tamaulipas Sur.

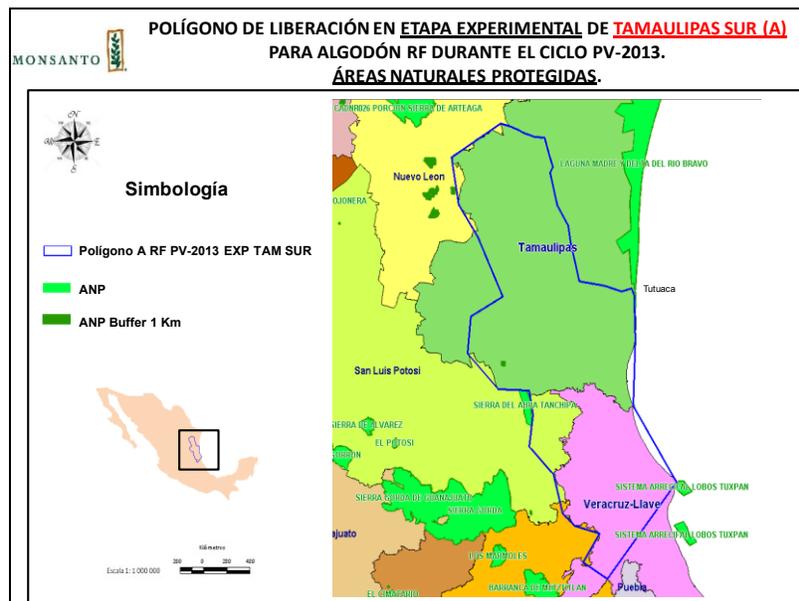


Figura 20. El Polígono A de liberación durante la Etapa Experimental del algodón RF, correspondiente a Tamaulipas Sur, durante el ciclo agrícola PV-2013, no contiene Áreas Naturales Protegidas.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

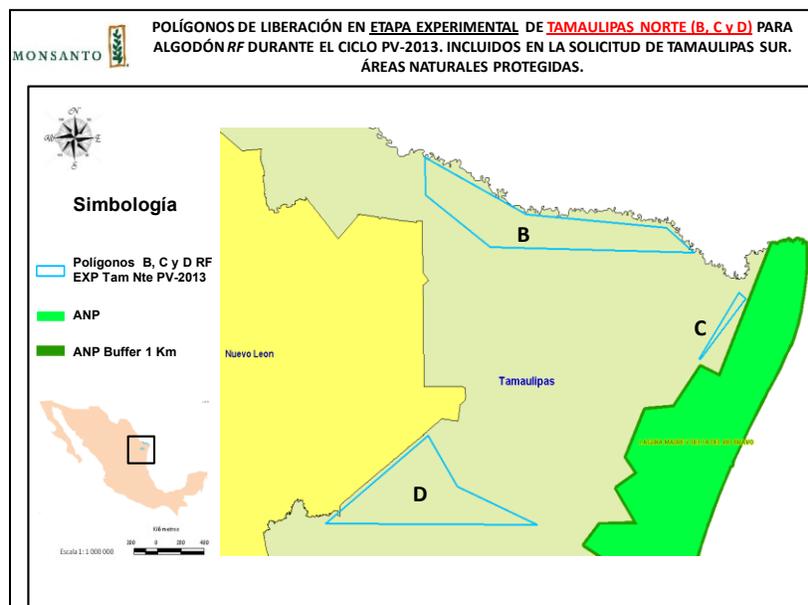


Figura 21. Los Polígonos B, C y D de liberación durante la Etapa Experimental del algodón RF, correspondiente a Tamaulipas Norte (incluidos en la solicitud de Tamaulipas Sur), durante el ciclo agrícola PV-2013, no contienen Áreas Naturales Protegidas.

II.c. Descripción de los polígonos donde se realizará la liberación y de las zonas vecinas según características de diseminación

Los polígonos A – D propuestos para la siembra de algodón RF en Etapa Experimental en Tamaulipas se sustentan en la siguiente información:

- No incluyen Áreas Naturales Protegidas establecidas oficialmente por la Comisión Nacional de Áreas Protegidas (CONANP) y decretadas en el Diario Oficial de la Federación.
- Con relación a los cuerpos de agua, los predios de algodón biotecnológico se ubicarán a una distancia no menor a un kilómetro de estos cuerpos de agua.
- En los polígonos propuestos, la infraestructura disponible permite la siembra de algodón.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

II.c.1. Listado de especies sexualmente compatibles y de las especies que tengan interacción en el área de liberación y en zonas vecinas

De acuerdo con Fryxell (1984), Talipov *et al.* (1995), Palomo (1996) y la Red de Información de Recursos de Germoplasma (GRIN) del Servicio de Investigación Agrícola (ARS-USDA) de Estados Unidos (<http://www.ars-grin.gov>), se reportan las siguientes especies de *Gossypium* para la región Norte de México (**Tabla 1, página. 14**).

En adición a la literatura consultada, se realizó una búsqueda sobre la presencia de especies del género *Gossypium* en el Estado de **Tamaulipas** en el sistema de la Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (**REMIB**)⁵. Los resultados de la búsqueda indican dos reportes para la especie *Gossypium hirsutum* y no se encontraron registros de especies silvestres emparentadas en estas bases de datos:

Gossypium hirsutum. Colección: Herbario de la Universidad de Texas – Austin, EUA (LL, TEX); TEX 00074435; Fecha de colecta: 18-Septiembre-1981; colector(es): P. A. Fryxell & R. Magill; Localidad: Soto La Marina, Punta Esterillas, orilla Oeste de Laguna Morales, al Sur de La Pesca, cerca del nivel del mar; Sitio: Longitud: -97° 46' 30", Latitud: 23° 41' 0"; Hábitat: parches entremezclados de salinas, pasto alto (*Spartina spartinae*) y montículos de matorrales espinosos con algo de manglar y pasto, cerca de la orilla del mar. Tipo de preparación: Herborizado (http://www.conabio.gob.mx/remib/cgi-bin/remib_distribucion.cgi).

Gossypium hirsutum. Colección: Herbario de la Universidad de Texas – Austin, EUA (LL, TEX); TEX 00074437; Fecha de colecta: 20-Febrero-1939; Colectores: H. LeSueur; Localidad: Soto La Marina, San José de los Leones; Sitio: Longitud: -97° 47' 26.02"; Latitud: 24° 16' 43"; Tipo de preparación: Herborizado (http://www.conabio.gob.mx/remib/cgi-bin/remib_distribucion.cgi).

Bases de datos consultadas:

- Herbario XAL del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-XAL).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ie-xal.html>
- Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México (ENCB, IPN).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/encb-ipn.html>

⁵ La Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (REMIB) es un sistema computarizado de información biológica (incluye bases de datos de tipo curatorial, taxonómico, ecológico, cartográfico, bibliográfico, etnobiológico, de uso y catálogos sobre recursos naturales y otros temas), basado en una organización académica interinstitucional descentralizada e internacional formada por centros de investigación y de enseñanza superior, públicos y privados, que posean tanto colecciones biológicas científicas como bancos de información. La REMIB, es una red interinstitucional que comparte información biológica. Está constituida por nodos, formados por los centros de investigación que albergan las colecciones científicas.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- Banco Nacional de Germoplasma Vegetal, México (BANGEV, UACH).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/bangev-uach.html>
- Herbario de la Universidad de Texas - Austin, EUA (LL, TEX).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ll-tex.html>
- Herbario IEB del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-Bajío).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ie-bajio.html>
- Colección de Monocotiledóneas Mexicanas (UAM-I).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/uam-i.html>
- Herbario del Instituto Nacional de Biodiversidad de Costa Rica (INBIO).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/inbio.html>
- Árboles y Arbustos Nativos para la Restauración Ecológica y Reforestación de México (IE-DF, UNAM).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ie-df-unam.html>
- Herbario Sessé y Mociño: Plantas de la Real Expedición Botánica a Nueva España (1787 - 1803) (MA).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/sesse.html>
- w3TROPICOS, Jardín Botánico de Missouri (MO).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/missouri.html>
- Herbario del CIBNOR.
- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/herbario_cibnor.html
- Herbario Weberbauer de la Universidad Nacional Agraria La Molina (MOL).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/lamolina.html>
- Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México (FES-I, UNAM).
- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/flora_valle_tehuacan_cuicatlan.html
- Herbario de la Universidad de Arizona, EUA (ARIZ).
- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/herbario_universidad_arizona.html
- Herbario del Centro de Investigación Científica de Yucatán, México (CICY).
- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/cicy_yucatan.html
- Agentes Bioactivos de Plantas Desérticas de Latinoamérica (ICBG).
- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ibunam_ibcg.html
- Herbario Kew del Real Jardín Botánico (RBGKEW).
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/kew.html>
- Ejemplares tipo de plantas vasculares del Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México (ENCB, IPN).
- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ejemplares_tipo_plantas_vasculares.html
- Estudio Florístico de la Sierra de Pachuca, Hidalgo, México (ENCB, IPN).
- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/estudio_floristico_ipn.html
- Estudio monográfico del género *Echinopepon* Naud. (Cucurbitaceae) en México (ENCB, IPN).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/estudio_monografico_ipn.html
- La flora útil de dos comunidades indígenas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán: Coxcatlán y Zapotitlán de Las Salinas, Puebla, México (FES-I, UNAM).
- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/flora_utilidos_comunidades.html
- Herbario de Geo. B. Hinton, México.
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/hinton.html>
- Colección de ejemplares tipo del Herbario de la Universidad de Texas – Austin, EUA (LL, TEX).
- http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/coleccion_ejemplares_herbario%20tx.html
- Programa de repatriación de datos de ejemplares mexicanos.
- <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/jbny.html>
- Colecciones de George Boole Hinton depositadas en el herbario de Kew: Familia Leguminosae.
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/rbgk.html>

A lo largo de los ciclos de siembra autorizados en las regiones algodoneras del norte de México, se han realizado búsquedas y monitoreos de poblaciones silvestres de *Gossypium hirsutum*, así como para verificar la presencia de la especie *Gossypium barbadense*. Estos estudios incluyeron las zonas de predios agrícolas y los alrededores de los sitios de liberación potencial. En ninguno de los estudios realizados se han encontrado poblaciones silvestres de especies de algodón. Esto debido a las prácticas culturales posteriores a la cosecha y a las disposiciones de Sanidad Vegetal conforme a la Norma Fitosanitaria 026, donde se estipula claramente que los agricultores deben destruir la vegetación residual de sus predios con la finalidad de evitar el establecimiento de insectos plaga. Además, existe un estudio exhaustivo sobre la presencia del género *Gossypium* en México y no se menciona a Tamaulipas como un Estado con presencia de especies de algodón silvestre (Palomo-Gil, 1996) (**ANEXO 11. ESTUDIO SOBRE PARIENTES SILVESTRES DE ALGODÓN EN MÉXICO**).

Las especies silvestres y cultivadas del género *Gossypium* pertenecen a la familia *Malvaceae*. Este género contiene 50 especies con un número cromosómico básico de 13. De las especies descritas, 45 son diploides ($2n=2x=26$) y se agrupan en siete genomas designados como **A**, **B**, **C**, **D**, **E**, **F**, y **G**. Las especies diploides con los genomas **A**, **B**, **E**, o **F** son originarias de África o Asia y se les conoce como especies del Viejo Mundo, las cuales están estrechamente relacionadas. Las especies diploides con los genomas **C** o **G** son originarias de Australia. Las especies diploides que contienen el genoma **D** son originarias del hemisferio occidental y se les conoce como especies del Nuevo Mundo. Los cromosomas en el genoma **D** son más pequeños que los cromosomas de los otros genomas (Milton y Allen, 1995).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Además de las 45 especies diploides, existen cinco especies alotetraploides ($2n=4x=52$) originarias del Nuevo Mundo, de las cuales cuatro son originarias del continente Americano y una de Hawaii. Las especies alotetraploides contienen la combinación de los genomas **AADD** y tienen 26 cromosomas largos y 26 cromosomas chicos, aunque existe algún traslape en tamaño entre los cromosomas de los genomas **A** y **D**. El origen genético de las especies alotetraploides fue demostrado experimentalmente cruzando *G. arboreum* (genoma **A**), especie diploide cultivada en la India, y *G. thurberi* (genoma **D**), especie diploide silvestre de América, y duplicando los cromosomas del híbrido estéril con colchicina. El híbrido anfidiplóide⁶ (**AADD**, $2n=4x=52$) produjo híbridos fértiles cuando fue cruzado con especies tetraploides americanas.

Dos especies diploides y dos tetraploides de *Gossypium* son las especies cultivadas actualmente:

- *G. herbaceum* L., ($2n=2x=26$) genoma **A**, cromosomas largos,
- *G. arboreum* L., ($2n=2x=26$) genoma **A**, cromosomas largos,
- *G. hirsutum* L., ($2n=4x=52$) genoma **AD**, 26 cromosomas chicos y 26 cromosomas largos, y
- *G. barbadense* L., ($2n=4x=52$) genoma **AD**, 26 cromosomas chicos y 26 cromosomas largos.

G. hirsutum es la principal especie de algodón cultivado y representa aproximadamente el 90% de la producción mundial de fibra y aceite de algodón. El sureste de México y Guatemala son considerados como el **centro de origen y diversidad** de la especie *Gossypium hirsutum* L. Adicionalmente, 11 de las 13 especies silvestres diploides conocidas son endémicas de México. **Éstas se encuentran distribuidas en la zona costera del Océano Pacífico y en los Estados de Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Tabasco y Veracruz (Palomo, 1996).**

Dado que en el área solicitada sólo se han reportado dos ocurrencias de la especie *Gossypium hirsutum* en áreas que claramente no son agrícolas, el potencial de cruzamiento con especies sexualmente compatibles es improbable. No se esperan consecuencias de los potenciales eventos de entrecruzamiento entre el algodón **RF** y algodones convencionales. Esto se debe al limitado movimiento del polen del algodón, la inocuidad de las proteínas conferidas y la carencia de ventaja selectiva que pudiera ser conferida a poblaciones ferales o especies relacionadas; si la polinización ocurriese el gen se encontraría en la semilla y en la planta receptora no se expresarían los genes introducidos.

Por otro lado, tomando en cuenta las medidas de bioseguridad señaladas en los incisos del punto **IV. MEDIDAS Y PROCEDIMIENTOS DE MONITOREO DE LA ACTIVIDAD Y DE BIOSEGURIDAD** de esta solicitud y dadas las características fenotípicas, fenológicas y reproductivas del cultivo del algodón (que no se modifican en el algodón **RF**), el cruzamiento de

⁶ Anfidiplóide (alopoliploide): poliploide formado tras la unión de dos conjuntos de cromosomas distintos y su posterior duplicación.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

variedades tetraploides de **RF** con especies silvestres diploides resulta altamente improbable. Además, esta diferencia de ploidía dificulta los entrecruzamientos, ya que pocas especies diploides producen semillas híbridas cuando son polinizadas con polen de algodón tetraploide.

En caso de presentarse polinización efectiva (el polen del algodón sólo es viable durante 24 horas y presenta poca capacidad de dispersión), las plantas híbridas triploides resultantes no podrían propagarse. Esto porque aunque usualmente crecen y desarrollan terminaciones florales, no forman polen viable debido a que los pares están desbalanceados y a la segregación de los cromosomas. Esto es de gran importancia porque en la evolución de las plantas, la ploidía se ha incrementado a partir de tales hibridaciones y se ha establecido que el *Gossypium* tetraploide (algodón cultivado) se originó de esta manera. Sin embargo, las observaciones empíricas indican que el proceso en este género es extremadamente raro y está ejemplificado por una sola ocurrencia.

Finalmente, todas las especies conocidas de *Gossypium* diferentes a las tetraploides poseen el mismo número de cromosomas ($n=13$). No se ha generado en la naturaleza otra ploidía en este género que haya sobrevivido hasta nuestros días. Esto es particularmente importante para México debido a que las especies tetraploides y diploides han coexistido por más de un millón de años (Wendel, 1989) y no se tienen registros de especies hexaploides, lo cual apoya la baja probabilidad de entrecruzamiento del algodón cultivado con sus parientes silvestres.

II.c.2. Descripción geográfica

Tamaulipas

Clima: El 58% del Estado de Tamaulipas presenta clima cálido subhúmedo, el 38% presenta clima seco y semiseco en el centro, el norte y hacia el suroeste del Estado; el 2% es templado subhúmedo en la región suroeste, y el restante 2% presenta clima cálido húmedo localizado hacia el suroeste.

Altitud: la región productiva de algodón en Tamaulipas Norte presenta alturas entre 1 y 75 MSNM.

Temperatura Media Anual: 23.5° C.

Temperatura Media Máxima Mensual: 22° C de junio a agosto.

Temperatura Media Mínima Mensual: 10° C en enero.

Precipitación Media Anual: 780 mm.

<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/tam/territorio/clima.aspx?tema=me&e=28>

<http://clima.inifap.gob.mx/redclima/clima/default.aspx?estado=27>

Veracruz

Clima

Los climas que predominan en el estado son cálido subhúmedo 53.5% y cálido húmedo 41%, estos se localizan en la Llanura Costera del Golfo Norte y Sur; el 3.5% presenta clima templado húmedo, el cual se localiza en las partes altas de las zonas montañosas y el 1.5% presenta clima templado, localizado también en las partes altas de la montaña; el 0.5% es seco y semiseco localizado en la región oeste del estado; y finalmente, un pequeño porcentaje (0.05%) es clima muy frío y se encuentra en las partes altas del Pico de Orizaba y Cofre de Perote.

La temperatura media anual es de 23°C, la temperatura máxima promedio es de alrededor de 32°C y se presenta en los meses de abril y mayo; la temperatura mínima promedio es de 13°C y se presenta en el mes de enero.

La precipitación media estatal es de 1,500 mm anuales, las lluvias se presentan en verano en los meses de junio a octubre; en la región colindante con Tabasco se presentan todo el año.

Relieve

La superficie estatal forma parte de las provincias: Sierra Madre Oriental, Llanura Costera del Golfo Norte, Eje Neovolcánico, Sierra Madre del Sur, Llanura Costera del Golfo Sur, Sierra de Chiapas y Guatemala y Cordillera Centroamericana.

En la costa norte se ha formado la laguna de Tamiahua a todo lo largo del estado predominan las llanuras, lomeríos y valles. Existen sierras formadas por rocas sedimentarias (se forman en las playas, los ríos y océanos y en donde se acumulen la arena y el barro), ígneas intrusivas (formadas debajo de la superficie de la Tierra), ígneas extrusivas o volcánicas (se forman cuando el magma o roca derretida sale de las profundidades hacia la superficie de la Tierra) y metamórficas (han sufrido cambios por la presión y las altas temperaturas), la elevación más alta la representa el volcán Pico de Orizaba o Citlaltépetl, con 5,610 metros sobre el nivel del mar (msnm) y la menor altitud se encuentra en la sierra La Garganta con 860 msnm.

La mayor extensión de playa conformada por dunas (montañas de arena) se encuentra en la ciudad de Veracruz con algunos kilómetros al norte y sur. El Lago de Catemaco se formó por la obstrucción de un flujo de lava.

<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/ver/territorio/relieve.aspx?tema=me&e=30>

San Luis Potosí

Clima

El clima que predomina es el seco y semiseco ya que se presenta en el 71% de la superficie del estado localizado en las región conocida como El Salado, el 15% está representado por el clima cálido subhúmedo, localizado en la parte este de la Sierra Madre Oriental, el 10% está representado por clima cálido húmedo, el cual se localiza hacia la Llanura Costera del Golfo, el 2.5% es clima muy seco localizado en la Mesa del Centro, el 1.5% es templado subhúmedo y se localiza en las llanuras que se encuentran entre las sierras, también se presenta clima templado húmedo en un porcentaje muy pequeño del 0.2 hacia el sureste del estado.

La temperatura media anual del estado es de 21°C, la temperatura mínima promedio es de **8.4°C** que se presenta en el mes de enero y la máxima promedio es alrededor de **32°C** se presenta en el mes de mayo. Las lluvias se presentan durante el verano en los meses de junio a septiembre, la precipitación media del estado es alrededor de **950 mm** anuales. La actividad agrícola se realiza principalmente en la zona de la huasteca, donde se presentan los climas cálidos húmedos y subhúmedos.

Relieve

La superficie estatal forma parte de las provincias: Llanura Costera del Golfo Norte, La Mesa del Centro y La Sierra Madre Oriental. Tiene varias altitudes, también tiene planicies y montañas en forma de escalón: el más bajo en la zona de la huasteca; el segundo la línea montañosa que forman las sierras del Rosal, Taponá, Venado o Moctezuma, Ahualulco y San Luis o San Miguelito; el siguiente peldaño lo forma una planicie entre las sierras de San Miguelito al oeste y la de Álvarez al este y en el extremo norte, el desierto de El Salado. Al noreste de la ciudad de San Luis Potosí está ubicado un conjunto de sierras formadas por rocas sedimentarias y continentales.

La mayor elevación es Cerro Grande con una altitud de 3 180 metros sobre el nivel del mar (msnm), Sierra de Catorce con 3,110 msnm y la Sierra El Mastrante con 2,590 msnm. Casi la totalidad de área restante está integrada por bajadas que tienen altitudes aproximadas a 2,000 metros.

<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/slp/territorio/relieve.aspx?tema=me&e=24>

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

II.c.3. Plano de ubicación señalando vías de comunicación

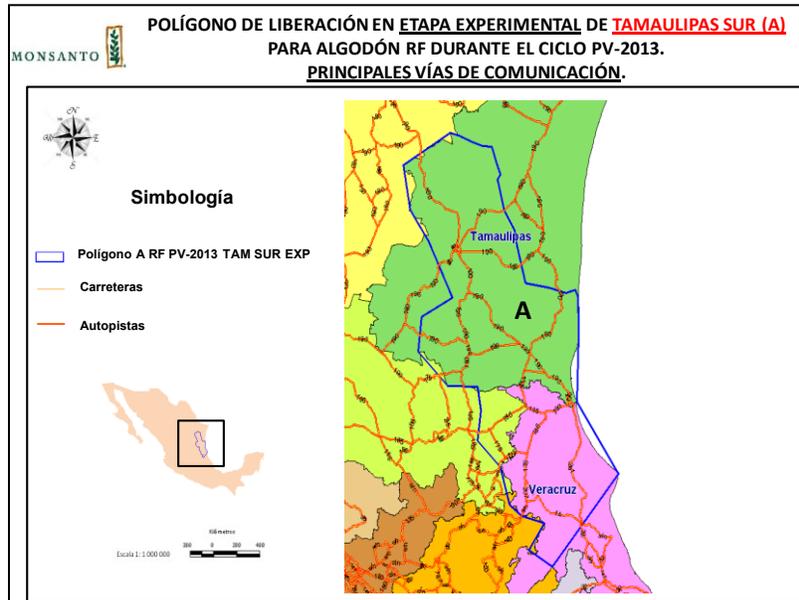


Figura 22. Principales vías de comunicación de la zona de liberación en el Polígono A (región de Tamaulipas Sur).

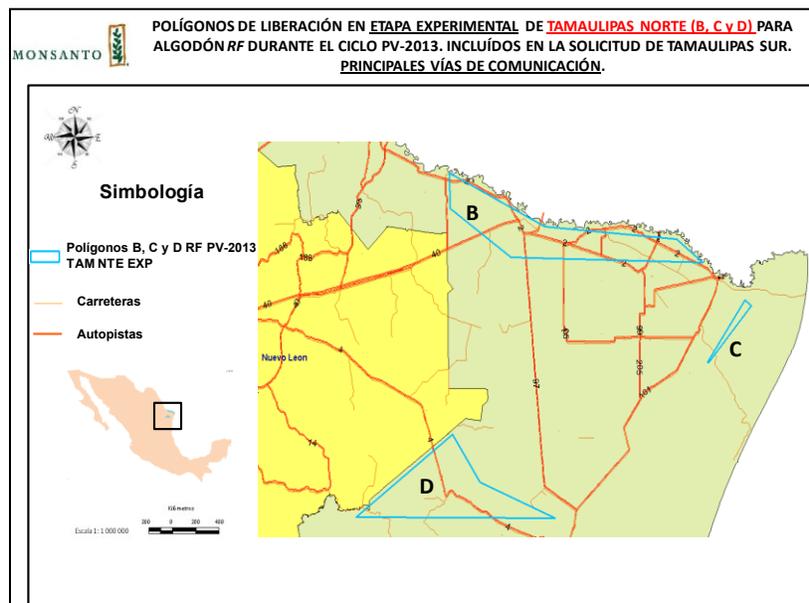


Figura 23. Principales vías de comunicación de la zona de liberación en los Polígonos B, C y D (Tamaulipas Norte, incluidos en la Solicitud de Tamaulipas Sur).

III. IDENTIFICACIÓN DE LOS POSIBLES RIESGOS QUE LA LIBERACIÓN DE LOS OGM PUDIERA GENERAR AL MEDIO AMBIENTE Y A LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA

III.a. Estabilidad de la modificación genética del OGM

El evento **RF** se desarrolló vía transformación con *Agrobacterium tumefaciens* para insertar un constructo con doble copia del gen *cp4 epsps* que codifica la enzima CP4 EPSPS. La estabilidad del inserto en **RF** ha sido comprobada por métodos científicos estándares.

Se realizó un análisis de hibridación Southern a lo largo de cinco generaciones de algodón **RF**. Durante los ensayos se comprobó que este evento contiene una sola copia del inserto en un solo locus de integración, el cual a su vez contiene dos copias intactas del gen *cp4 epsps* y no se encontraron secuencias adicionales del plásmido usado en la transformación. Además, se realizaron análisis de PCR y secuenciación para identificar los sitios de inserción y las regiones flanqueantes 5' y 3' del genoma del algodón, adyacentes a la construcción. Esto confirma la organización correcta de los elementos de la construcción y la estabilidad del evento en múltiples generaciones (**ANEXO 5. MSL-19580 Análisis Molecular de RF**).

También se realizó un análisis de segregación en el que se ha observado un patrón de herencia Mendeliana de la característica de tolerancia a glifosato después de autopolinización o retrocruzamiento del evento **RF** con otras variedades de algodón. Además, la tolerancia al glifosato se ha mantenido durante el desarrollo de este evento desde sus inicios a la fecha, al igual que la calidad de la semilla que se ha mantenido después de la transferencia de la construcción con dos copias del gen *cp4 epsps* dentro de distintas variedades comerciales.

En resumen, se concluye que el DNA insertado en los eventos de algodón **RF**, se integró de manera estable y la característica conferida es fenotípica y genéticamente estable a través de varias generaciones y condiciones ambientales. La estabilidad genética se puede confirmar también por la exitosa comercialización de las variedades de algodón **RF**.

Teniendo en cuenta la información sobre la integración del material genético insertado, estabilidad de número de copias, segregación mendeliana de los rasgos a través de múltiples generaciones y después cruzamiento con múltiples variedades para condiciones ambientales y agronómicas distintas; podemos concluir que la característica de tolerancia a glifosato es estable en el evento **RF**. **Ver carpeta de Caracterización Molecular-Secuencias en el CD adjunto a este documento.**

La recombinación es poco probable

Es poco probable que ocurra recombinación en el inserto de ADN en el evento **RF** (MON-88913-8). Este hecho es apoyado por los estudios de estabilidad genética que muestran que se ha encontrado el evento MON-88913-8 por varias generaciones en el mismo sitio de inserción sin diferencias en los patrones de bandas observados.

Si se llevara a cabo la recombinación, ésta afectaría secuencias genéticas localizadas en diferentes lugares del ADN genómico y, muy probablemente resultaría en translocaciones cromosomales con consecuencias letales o al menos disminución de su capacidad de supervivencia para las células afectadas y su progenie. Además, tales rearrreglos tendrían que suceder en una fase temprana del desarrollo de la planta o la semilla para tener efectos significativos. Mientras más tarde ocurra, menor será el número de células vegetales afectadas. Dado que este tipo de recombinación es poco probable y tiene muchas posibilidades de producir líneas celulares no viables, es extremadamente poco probable que el producto recombinado origine alguna línea celular reproductiva.

No se espera aumento de riesgos producto de recombinación potencial

En el caso altamente improbable en el cual ocurriera recombinación que involucrara el inserto en el evento **RF** (MON-88913-8), la única consecuencia posible sería la modificación del nivel de expresión de los genes afectados y no una modificación de la calidad de la proteína producida. Incluso si este evento hipotético sucediera, afectaría sólo unas pocas semillas y, por lo tanto, la cantidad total de proteínas resultantes de este raro evento seguirían siendo extremadamente bajas y el nivel de exposición a dichas proteínas no cambiaría significativamente. Debido a la seguridad demostrada de la proteína recombinante introducida en el algodón **RF**, el riesgo que podría surgir de esta recombinación hipotética es insignificante.

Conclusión

Tomando en cuenta el bajísimo potencial de recombinación entre los insertos en el evento **RF**, la estabilidad de los elementos genéticos por varias generaciones, la viabilidad e idoneidad seriamente comprometidas de las células afectadas por el evento hipotético de translocación genómica, y la seguridad demostrada de la proteína introducida en este evento, el riesgo de tal recombinación es descartable. Se concluye que el DNA insertado en el algodón MON-88913-8 se integró de manera estable y la característica conferida es fenotípica y genéticamente estable a través de varias generaciones y condiciones ambientales. **Ver carpeta de Caracterización Molecular-Secuencias en el CD adjunto a este documento.**

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

Se evaluaron los niveles de la proteína CP4 EPSPS en tejido foliar joven y maduro (OSL), radicular, semilla y polen colectados de plantas **RF** de pruebas de campo en cuatro localidades de **Estados Unidos en 2002**. Para esto se utilizó un ensayo de ELISA validado y los niveles de proteína para todos los tejidos se expresaron en microgramos por gramo ($\mu\text{g/g}$) en peso base húmeda. El contenido de humedad se midió en todos los tejidos excepto polen. Los niveles de proteína de los tejidos vegetales fueron convertidos a base seca mediante cálculos. El nivel medio de proteína CP4 EPSPS entre los cuatro sitios experimentales para tejido foliar joven, OSL1, OSL2, OSL3, raíz y semilla de algodón **RF** fue de 970, 1400, 690, 630, 99 y 340 $\mu\text{g/g}$ en peso seco, respectivamente (**Tabla 3**). En el caso de polen para los cuatro sitios fue 4.0 $\mu\text{g/g}$ peso base húmeda. Los niveles de proteína CP4 EPSPS en todos los tejidos del material MON-88913(-) estuvieron por debajo del límite de cuantificación del ensayo.

Durante el ciclo agrícola **PV-2007** se colectaron hojas (en diferentes tiempos: OSL1, OSL2, OSL3 y OSL4) de varias tecnologías de algodón biotecnológico en las regiones algodoneras de Sonora Sur, Mexicali y la Comarca Lagunera en **México**, entre ellas hojas de algodón Solución Faena Flex® (**RF**) (MON-88913-8). Se realizaron análisis de ELISA validados para determinar los niveles de las diferentes proteínas insertadas en los eventos, entre ellas CP4 EPSPS. Los resultados de los niveles de proteína para **RF** en los tiempo OSL1 – OSL4, fueron 520, 510, 530 y 520 $\mu\text{g/g}$ de peso en base húmeda, respectivamente.

De acuerdo a los resultados, se observaron niveles similares de la proteína CP4 EPSPS en tejido de **RF** entre las muestras de diferentes regiones (**ANEXO 2. RA 07-RA-60-2 Niveles de proteínas GM en hoja de algodón México 2007**). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en las pruebas de campo en Estados Unidos durante 1999 (**ANEXO 3. MSL-16614 Niveles de proteínas GM en algodón USA 1999**) y 2004 (**ANEXO 4. MSL-19892 Niveles de proteínas GM en algodón USA 2004**) donde se encontró que la expresión de la proteína EPSPS fue comparable entre regiones mediante detección inmunológica.

La eficacia en cuanto a tolerancia al herbicida se ha mantenido durante el desarrollo de los eventos de algodón biotecnológico, desde su comercialización en 1996 y seguida a partir de 2002 con **RF**; al igual que la calidad de la semilla, que se ha mantenido después de la transferencia del gen *cp4 epsps* dentro de distintas variedades comerciales.

III.c. Características del fenotipo del OGM

El algodón biotecnológico **RF** posee dos copias del gen *cp4 epsps*, que le confiere tolerancia la herbicida glifosato. Los genes de selección y demás secuencias de la construcción génica insertadas en **RF** no le confieren ninguna característica fenotípica adicional.

El evento de algodón **Solución Faena Flex® (RF)** (MON-88913-8) no presenta cambios fenotípicos de significancia biológica comparado con algodón convencional. Los datos que apoyan esta afirmación provienen de cientos de pruebas de campo llevadas a cabo desde 2002, en Australia, Argentina, costa Rica, México, Sudáfrica y Estados Unidos (incluyendo Puerto Rico), para probar sus características agronómicas, parámetros fenotípicos y eficacia. El evento **RF** se produjo mediante la inserción de una doble copia del gen *cp4 epsps* en la variedad de algodón Coker 312 mediante transformación con *Agrobacterium tumefaciens*.

En México, se han implementado numerosos ensayos de campo y laboratorio para evaluar comportamiento agronómico y características fenotípicas del algodón **RF** en las regiones algodoneras del norte del país. Se han medido parámetros como fecha de emergencia, porcentaje de emergencia, vigor de la planta, días a cuadro, días a floración, días a apertura de primeras bellotas, altura de planta, y número de capullos por planta, rendimiento de algodón en hueso, rendimiento de algodón en fibra, porcentaje de fibra. Los resultados de las evaluaciones experimentales y pilotos del algodón **RF** en las zonas algodoneras del norte de México no señalaron diferencias fenotípicas de significancia biológica.

Por lo tanto es posible afirmar que, **salvo por la tolerancia al herbicida glifosato, RF es fenotípicamente igual que los algodones convencionales tanto en México como en otras regiones del mundo.** Los resultados de evaluaciones experimentales en las regiones algodoneras de México, donde se ha utilizado esta tecnología, son consistentes con lo observado en el resto del mundo. De esta manera, las características agregadas no impactan en su potencial como planta.

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

Salvo la característica de tolerancia al herbicida glifosato (gen *cp4 epsps*), ninguna otra característica se ha modificado como producto de la modificación genética del algodón **RF**. Este evento de algodón biotecnológico no presenta cambios fenotípicos de significancia biológica comparado con algodón convencional.

Esta aseveración está soportada en cientos de pruebas de campo llevadas a cabo desde 2002 a la fecha, en Australia, Argentina, Brasil, Colombia, India, México, Sudáfrica y Estados Unidos (incluyendo Puerto Rico), para probar sus características agronómicas, parámetros fenotípicos y eficacia.

Por lo tanto es posible afirmar que, **salvo por la tolerancia al herbicida glifosato, RF es fenotípicamente igual que los algodones convencionales tanto en México como en otras regiones del mundo.** Los resultados de evaluaciones experimentales en las regiones algodoneras de México, donde se ha utilizado esta tecnología por más de 10 años, son consistentes con lo observado en el resto del mundo. De esta manera, las características agregadas no impactan en su potencial como planta.

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

El evento de algodón **Solución Faena Flex®** no presenta cambios fenotípicos de significancia biológica comparado con algodón convencional. Los datos que apoyan esta afirmación provienen de cientos de pruebas de campo llevadas a cabo desde 2002, en Australia, Argentina, costa Rica, México, Sudáfrica y Estados Unidos (incluyendo Puerto Rico), para probar sus características agronómicas, parámetros fenotípicos y eficacia. El evento **RF** (MON-88913-8) se produjo mediante la inserción de una doble copia del gen *cp4 epsps* en la variedad de algodón Coker 312 mediante transformación con *Agrobacterium tumefaciens*.

En México, se han implementado numerosos ensayos de campo y laboratorio para evaluar comportamiento agronómico y características fenotípicas del algodón **RF** en las regiones algodoneras del norte. Se han medido parámetros como fecha de emergencia, porcentaje de emergencia, vigor de la planta, días a cuadreo, días a floración, días a apertura de primeras bellotas, altura de planta, y número de capullos por planta, rendimiento de algodón en hueso, rendimiento de algodón en fibra, porcentaje de fibra. Los resultados de las evaluaciones experimentales y pilotos del algodón **RF** en las zonas algodoneras del norte de México no señalaron diferencias fenotípicas de significancia biológica.

Por lo tanto es posible afirmar que, **salvo por la tolerancia al herbicida glifosato, RF es fenotípicamente igual que los algodones convencionales tanto en México como en otras regiones del mundo.** Los resultados de evaluaciones experimentales en las regiones algodoneras de México, donde se ha utilizado esta tecnología, son consistentes con lo observado en el resto del mundo. De esta manera, las características agregadas no impactan en su potencial como planta.

También se ha colectado información sobre la respuesta de la planta a la presencia de estresantes ambientales como plagas y enfermedades. Las interacciones ecológicas permiten concluir que el evento **RF** no confiere al algodón ningún incremento del potencial de plaga y tampoco se observaron cambios significativos en las interacciones del algodón con el medio ambiente. Esta caracterización fenotípica apoya la conclusión de que no hay cambios significativos presentes en **RF**, más allá del evento deseado (**Ver carpeta de Estudios de Equivalencia Substancial y Reportes USDA**).

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

Los estudios sobre comportamiento agronómico, caracterización bioquímica y características fenotípicas y fenológicas del algodón biotecnológico **RF**, realizados en las zonas algodoneras del norte de México desde 2004 a la fecha, demuestran que ninguno de los atributos reproductivos, capacidad de supervivencia o latencia se modifica como resultado de las características conferidas por la modificación genética. Esto debido a que la única característica nueva es la tolerancia a glifosato, producto de la inserción de la proteína CP4 EPSPS de *Agrobacterium tumefaciens*. En este sentido, las plantas de algodón **RF** no son diferentes de las plantas convencionales, que a su vez también son completamente dependientes del hombre y no pueden prosperar por sí mismas dadas sus limitaciones de dispersión de polen y semilla.

No se espera que la característica de tolerancia a glifosato otorgue al algodón ventajas adaptativas en hábitats naturales, en condiciones naturales o dentro de un agroecosistema. La similitud de las características de las plantas **RF** con el algodón convencional se ha ratificado durante varios años en ensayos de campo, y programas comerciales donde se han autorizado, lo que nos permite concluir que ***no existen ventajas adaptativas ó un mayor potencial de convertirse en plaga en los mencionados eventos como consecuencia de la modificación genética.***

Las características reproductivas no han sido alteradas en el evento **RF** como consecuencia del proceso de transformación cuando se los compara con el algodón convencional.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Inocuidad de la proteína introducida CP4 EPSPS**CP4 EPSPS**

La bacteria *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4 es un microorganismo presente comúnmente en el suelo y en la rizósfera de las plantas. Únicamente el gen *cp4 epsps* de esta bacteria fue transferido para producir las líneas de algodón tolerantes al herbicida Faena Ultra®. La secuencia del ADN transferido y de la proteína producida es completamente conocida y se encuentra presente en todas las plantas y en la mayoría de los microorganismos que comúnmente son parte de nuestra dieta, y no existe evidencia de que esta proteína pueda causar algún efecto negativo en la salud humana o de cualquier otro vertebrado. Adicionalmente, no se espera que los humanos estén expuesto a la proteína CP4 EPSPS expresada por el algodón **RF**, ya que el aceite derivado del algodón utilizado para el consumo humano no contiene esta proteína (Fuchs, 1994).

La proteína CP4 EPSPS no presenta homología con las secuencias de aminoácidos de las proteínas tóxicas y alergénicas de las bases de datos Pir Protein, Swissprot (Bairoch y Boeckmann, 1993) y Genpept (Benson *et al.*, 1993). La secuencia de aminoácidos o regiones de alta homología entre dos o más proteínas puede proveer información importante sobre la actividad biológica de una proteína. Es decir, la secuencia de aminoácidos puede proveer información acerca de las propiedades estructurales, hidrofóbicas e hidrofílicas, inmunogenicidad, estabilidad y la posible función de la proteína identificada. El uso de bases de datos ha demostrado ser una excelente herramienta para predecir la función biológica de proteínas desconocidas. La secuencia de la proteína CP4 EPSPS fue comparada con las secuencias peptídicas identificadas como “alérgenos” y “toxinas” de todas las bases de proteínas disponibles para identificar si la proteína CP4 EPSPS tiene alguna homología con alérgenos o toxinas. Los resultados muestran que no existe ninguna homología significativa entre las secuencias de los alérgenos y toxinas conocidas y la secuencia de la proteína CP4 EPSPS. La conclusión de que esta proteína no es tóxica está apoyada en los resultados de estudios de toxicología aguda en ratones, donde no se encontró ninguna evidencia de efectos tóxicos en los animales de prueba cuando se administró una dosis de 572 mg/kg de la proteína CP4 EPSPS (Naylor, 1993).

La introducción de variedades de algodón **RF** tolerantes al herbicida glifosato no presenta ningún riesgo de provocar reacciones alérgicas. El aceite de la semilla de algodón es el producto más utilizado para el consumo humano y los análisis del aceite derivado de variedades **RF** confirmaron que no existe proteína CP4 EPSPS detectable en el aceite para uso industrial (Fuchs, 1994). Con base en estos resultados no se espera un consumo humano significativo de esta proteína. Adicionalmente, la secuencia de aminoácidos de la proteína CP4 EPSPS no muestra homología con ninguna de las secuencias de los alérgenos en las tres bases de datos de proteínas actuales (Mitsky, 1993; Genpet, Pir protein y Swissprot) y, por lo tanto, se concluye que la proteína CP4 EPSPS no presenta ningún potencial alergénico para

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

los humanos. Adicionalmente, la proteína CP4 EPSPS es rápidamente desnaturalizada por el calor y la digestión enzimática y ácida en fluidos gástricos simulados (ANZFA, 2001).

La proteína CP4 EPSPS purificada en dosis agudas de 572 mg/kg de peso corporal no produjo efectos adversos en ratones. Esta dosis representa más de 1000 veces el consumo potencial previsto de CP4 EPSPS en alimentos derivados de todos los cultivos GM que expresan esta enzima bajo desarrollo por Monsanto en ese tiempo (soya, papa, tomate, maíz) (Harrison *et al.*, 1996).

Las instituciones responsables de esta evaluación en los Estados Unidos (USDA-APHIS, FDA, EPA) y México (Secretaría de Salud) han dictaminado la inocuidad del algodón *RF* y aprobado su consumo humano y animal.

Potencial como maleza

El algodón (*Gossypium hirsutum* L.) ha sido caracterizado extensivamente y tiene una larga historia de producción agrícola segura. Las semillas son las únicas estructuras supervivientes y es poco probable que el algodón sobreviva como maleza debido a que esta especie ha sido el resultado de procesos de selección artificial dirigida.

La información colectada a través de estudios de campo en México y otros países, indica que el desempeño agronómico del evento *RF* es similar al de la línea parental convencional. A través de esta información se ha concluido que dicho evento no presenta ningún riesgo adicional de convertirse en maleza, con respecto al cultivo convencional (**Ver carpeta de Reportes USDA**).

Baker (1965) desarrolló un consenso general respecto a los rasgos comunes de malezas: ciclo anual, alta producción de semillas, alto porcentaje de germinación y poca dormancia, varias generaciones por año, gran capacidad de dispersión y extrema susceptibilidad a un herbicida en particular. El algodón no posee estas características de maleza y se define tradicionalmente como un cultivo que se autopoliniza (Niles y Feaster, 1984). Basados en la estructura floral de las plantas de algodón, no existen barreras morfológicas a la polinización cruzada. Sin embargo, el polen es pesado y pegajoso y su dispersión por el viento es muy limitada. Además, el polen del algodón sólo es viable durante 24 horas, lo cual presenta una barrera adicional a la reproducción y confirma el inexistente potencial de que el algodón se convierta en una maleza, ya que no cumple con las características de alta dispersión que poseen este tipo de plantas.

La falta de efectos no intencionales sobre la germinación y dormancia, factores predominantes que limitan el potencial de maleza, confirma que es improbable que el algodón *RF* se convierta en maleza. Por otro lado, las consecuencias agronómicas de las plantas

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

voluntarias de algodón serían mínimas, ya que estas plantas se controlan fácilmente por medios mecánicos o por uno o varios herbicidas registrados para algodón.

Las consecuencias ambientales de la transferencia de polen de algodón **RF** a otros algodones se consideran insignificantes debido a la limitada capacidad de movimiento del polen de algodón, la seguridad de las proteínas introducidas, y la falta de ventajas selectivas conferidas a la planta receptora. Sólo se esperaría transferencia de genes a otros algodones cultivados y en ese caso, en los niveles bajos, biológicamente normales para *Gossypium hirsutum*. Por lo tanto su capacidad de convertirse en maleza es nula.

El algodón **RF** es fenotípicamente igual que los algodones convencionales, tanto en México como en otras regiones del mundo. Los estudios sobre comportamiento agronómico, caracterización bioquímica y características fenotípicas y fenológicas realizadas en las regiones algodoneras del norte de México desde 2004 a la fecha, demuestran que ninguno de los atributos reproductivos, capacidad de supervivencia o latencia se modifica como resultado de las características conferidas por la modificación genética.

No se espera que las características de protección contra insectos y de tolerancia a glifosato otorguen al algodón ventajas adaptativas en hábitats naturales, en condiciones naturales o dentro de un agroecosistema. La similitud de las características de las plantas GM con el algodón convencional se ha ratificado durante varios años en ensayos de campo y programas comerciales donde se han autorizado, lo que nos permite concluir que no existen ventajas adaptativas o un mayor potencial de convertirse en plaga en este evento como consecuencia de la modificación genética.

Debido a lo anterior, ***el algodón RF (MON-88913-8), no es considerado como una maleza y no representa un riesgo de convertirse en maleza más allá de lo que representarían los algodones convencionales.***

Potencial de flujo génico

Aunque el cruzamiento natural es posible, el algodón es normalmente considerado un cultivo que se autopoliniza (Niles y Feaster, 1984). Basados en la estructura floral, no existen barreras morfológicas a la polinización cruzada. Sin embargo, el polen es pesado y pegajoso y su dispersión por el viento es muy limitada. El polen se puede transferir por insectos, en particular abejas silvestres, abejorros y abejas mieleras.

Literatura reciente sobre algodón muestra que la frecuencia de polinización cruzada disminuye al aumentar la distancia de la planta a la fuente de polen. McGregor (1976) rastreó el movimiento de polen por medio de marcaje con partículas fluorescentes y encontró que, incluso entre flores localizadas a 150-200 pies de un campo de algodón rodeado de numerosas

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

colonias de abejas para asegurar una buena oportunidad de transferencia de polen, las partículas se detectaron sólo en 1.6% de las flores.

Dadas las características fenotípicas, fenológicas y reproductivas del cultivo del algodón (que no se modifican en el algodón **RF**), el cruzamiento de variedades tetraploides de algodón **RF** con especies silvestres diploides resulta altamente improbable. Además, esta diferencia de ploidía dificulta los entrecruzamientos, ya que pocas especies diploides producen semillas híbridas cuando son polinizadas con polen de algodón tetraploide.

En caso de presentarse polinización efectiva (el polen del algodón sólo es viable durante 24 horas y presenta poca capacidad de dispersión), las plantas híbridas triploides resultantes no podrían propagarse. Esto porque aunque usualmente crecen y desarrollan terminaciones florales, no forman polen viable debido a que los pares están desbalanceados y a la segregación de los cromosomas. Esto es de gran importancia porque en la evolución de las plantas, la ploidía se ha incrementado a partir de tales hibridaciones y se ha establecido que el *Gossypium* tetraploide (algodón cultivado) se originó de esta manera. Sin embargo, las observaciones empíricas indican que el proceso en este género es extremadamente raro y está ejemplificado por una sola ocurrencia.

Finalmente, todas las especies conocidas de *Gossypium* diferentes a las tetraploides poseen el mismo número de cromosomas ($n=13$). No se ha generado en la naturaleza otra ploidía en este género que haya sobrevivido hasta nuestros días. Esto es particularmente importante para México debido a que las especies tetraploides y diploides han coexistido por más de un millón de años (Wendel, 1989) y no se tienen registro de especies hexaploides, lo cual apoya la baja probabilidad de entrecruzamiento del algodón cultivado con sus parientes silvestres.

Las consecuencias ambientales de la transferencia de polen del evento **RF** a otros algodones es considerada despreciable debido a la limitada movilidad del polen del algodón, la inocuidad de la proteína introducida y la falta de cualquier ventaja selectiva conferida en la planta de algodón receptora. Se estima que el flujo génico interespecífico ocurra a niveles muy bajos, disminuyendo rápidamente a casi cero con el incremento de la distancia entre la fuente de polen y los receptores. En general, el potencial de entrecruzamiento con parientes silvestres es poco probable debido al relativo aislamiento de la distribución de especies del género *Gossypium*, diferentes sistemas de cruzamiento e incompatibilidad genética.

El evento **RF** (MON-88913-8) **no exhibe ninguna característica fenotípica que pudiese incrementar su supervivencia en hábitats no agrícolas**, o en áreas fuera del rango geográfico de la producción de algodón. En el caso remoto de que se llegasen a formar híbridos entre este evento y parientes silvestres, la introducción de la característica de tolerancia a glifosato a especies en hábitats no agrícolas no conferiría ventaja competitiva alguna, dado que la tecnología funciona como una protección ante estímulos externos

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

(aplicaciones de glifosato), en cuya ausencia no habría resultados visibles en comparación con algodón convencional (**Ver Carpeta de Reportes USDA**).

III.g. Descripción de uno o más métodos de identificación, niveles de sensibilidad y reproducibilidad

La información específica sobre los métodos de detección ha sido presentada a la SAGARPA-SEMARNAT como parte de diversas solicitudes de algodón **Solución Faena Flex®** y Bollgard®II/Solución Faena Flex® sometidas durante 2004-2009. A continuación se enlistan los reportes relacionados con los métodos de detección para el algodón Solución Faena Flex®, los cuales se presentan en formato electrónico como parte de esta solicitud (**Ver Carpeta Métodos de detección**).

Protocolos:

Monsanto Company. A recommended procedure for DNA extraction from plant tissues. Monsanto Biotechnology Regulatory Sciences. **ANEXO 12.**

Monsanto Company. Recommended procedure for PEG precipitation of genomic plant DNA. Monsanto Biotechnology Regulatory Sciences. **ANEXO 13.**

Monsanto Company. A recommended procedure for Real-Time Quantitative TaqMan® PCR for Roundup Ready® Flex cotton, MON 88913. Monsanto Biotechnology Regulatory Sciences. **ANEXO 14.**

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

Potencial de flujo génico

Aunque el cruzamiento natural es posible, el algodón es normalmente considerado un cultivo que se autopoliniza (Niles y Feaster, 1984). Basados en la estructura floral, no existen barreras morfológicas a la polinización cruzada. Sin embargo, el polen es pesado y pegajoso y su dispersión por el viento es muy limitada. El polen se puede transferir por insectos, en particular abejas silvestres, abejorros y abejas mieleras.

Literatura reciente sobre algodón muestra que la frecuencia de polinización cruzada disminuye al aumentar la distancia de la planta a la fuente de polen. McGregor (1976) rastreó el movimiento de polen por medio de marcaje con partículas fluorescentes y encontró que, incluso entre flores localizadas a 150-200 pies de un campo de algodón rodeado de numerosas colonias de abejas para asegurar una buena oportunidad de transferencia de polen, las partículas se detectaron sólo en 1.6% de las flores.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Dadas las características fenotípicas, fenológicas y reproductivas del cultivo del algodón (que no se modifican en el algodón **RF**), el cruzamiento de variedades tetraploides de **RF** con especies silvestres diploides resulta altamente improbable. Además, esta diferencia de ploidía dificulta los entrecruzamientos, ya que pocas especies diploides producen semillas híbridas cuando son polinizadas con polen de algodón tetraploide.

En caso de presentarse polinización efectiva (el polen del algodón sólo es viable durante 24 horas y presenta poca capacidad de dispersión), las plantas híbridas triploides resultantes no podrían propagarse. Esto porque aunque usualmente crecen y desarrollan terminaciones florales, no forman polen viable debido a que los pares están desbalanceados y a la segregación de los cromosomas. Esto es de gran importancia porque en la evolución de las plantas, la ploidía se ha incrementado a partir de tales hibridaciones y se ha establecido que el *Gossypium* tetraploide (algodón cultivado) se originó de esta manera. Sin embargo, las observaciones empíricas indican que el proceso en este género es extremadamente raro y está ejemplificado por una sola ocurrencia.

Finalmente, todas las especies conocidas de *Gossypium* diferentes a las tetraploides poseen el mismo número de cromosomas ($n=13$). No se ha generado en la naturaleza otra ploidía en este género que haya sobrevivido hasta nuestros días. Esto es particularmente importante para México debido a que las especies tetraploides y diploides han coexistido por más de un millón de años (Wendel, 1989) y no se tienen registro de especies hexaploides, lo cual apoya la baja probabilidad de entrecruzamiento del algodón cultivado con sus parientes silvestres.

Las consecuencias ambientales de la transferencia de polen del evento **RF** a otros algodones es considerada despreciable debido a la limitada movilidad del polen del algodón, la inocuidad de las proteínas introducidas y la falta de cualquier ventaja selectiva conferida en la planta de algodón receptora. Se estima que el flujo génico interespecífico ocurra a niveles muy bajos, disminuyendo rápidamente a casi cero con el incremento de la distancia entre la fuente de polen y los receptores. En general, el potencial de entrecruzamiento con parientes silvestres es poco probable debido al relativo aislamiento de la distribución de especies del género *Gossypium*, diferentes sistemas de cruzamiento e incompatibilidad genética.

El evento **RF** (MON-88913-8) no exhibe ninguna característica fenotípica que pudiese incrementar su supervivencia en hábitats no agrícolas, o en áreas fuera del rango geográfico de la producción de algodón. En el caso remoto de que se llegasen a formar híbridos entre este evento y parientes silvestres, la introducción de la característica de tolerancia a glifosato a especies en hábitats no agrícolas no conferiría ventaja competitiva alguna, dado que la tecnología funciona como una protección ante estímulos externos como la presión de insectos y aplicaciones de glifosato, en cuya ausencia no habría resultados visibles en comparación con algodón convencional (**Ver Carpeta de Reportes USDA**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

III.i. Bibliografía reciente de referencia a los datos presentados

- ANZFA (Australian New Zealand Food Authority). 2001b. Food safety: the priority classification system for food business. Lkd.
- Bairoch, A. and B. Boeckmann. 1993. "The SWISS-PROT Protein Sequence Data Bank, Recent Developments." *Nucl. Acids Res.* 21:3093-3096.
- Baker, H. G., 1965. Characteristics and modes of origin of weeds. *In: H. G. Baker & G. L. Stebbins (eds.), The Genetics of Colonizing Species.* Academic Press, New York, pp. 147-172.
- Benson, D., D. J. Lipman, and J. Ostell. 1993. "GenBank". *Nucl. Acids Res.* 21:2963-2965.
- CTIC (Conservation Technology Information Center). 2000. Top ten benefits. Conservation Technology Information Center, West Lafayette, Indiana.
- Duke, S. O. 1988. Glyphosate. p. 1-70. in Kearney, P. C. and D. D. Kaufman, eds. *Herbicides – Chemistry, Degradation, and Mode of Action.* Dekker, New York.
- Fryxell, P. A. 1984. Taxonomy and Germplasm Resources. pp. 27-57. In Kohel, R. J. and Lewis, C. F., Editors. *Cotton.* American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin. 605 pp.
- Fuchs, R.L. 1994. "Gene Expression and Compositional Analysis from Field-Grown Insect Resistant Cotton Tissues" (1994), Study Number 92-01-36-07, an unpublished study conducted by Monsanto Company. EPA MRID#43168701.
- Harrison, L., M. Bailey, M. Naylor, J. Ream, B.G. Hammond, D. Nida, y B. Burnette. 1996. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice. *Journal of Nutrition* 126:728-740.
- Milton Poehlman, John; David Allen Sleper. 1995. *Breeding field crops* Fourth Edition. Iowa State University Press/Ames.
- Naylor, M. W., (1993) Acute Oral Toxicity Study of CP4 EPSPS Protein in Albino Mice, Monsanto Technical Report, MSL-13077.
- Naylor, M. W., (1993) Acute Oral Toxicity Study of CP4 EPSPS Protein in Albino Mice, Monsanto Technical Report, MSL-13077.
- Palomo Gil, Arturo. 1996. Distribución, colecta y uso de las especies silvestres de algodón en México. *Revista Ciencia Páginas* 359-369. Academia Mexicana de Ciencias. México, D.F.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Talipov, Ferdinand S.; Salgado Uriostegui, F.; Catalan Heverastico, C.; Domínguez Marquez, V.; Bahena Lagunas, M. 1995. El cultivo del algodón y su mejoramiento genético en el estado de Guerrero. Universidad Autónoma de Guerrero. Dirección de Investigación Científica.

Wendel, J.F., 1989. New World cottons contain Old World cytoplasm. Proc. Nat. Acad. Scie. USA 86: 4132-4136.

IV. MEDIDAS Y PROCEDIMIENTOS DE MONITOREO DE LA ACTIVIDAD Y DE BIOSEGURIDAD

IV.a. Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad

Monsanto cuenta con un Protocolo de Bioseguridad, cuyo objetivo principal es el de proveer los lineamientos de las mejores prácticas y recomendaciones generales para el transporte, manejo, evaluación y disposición de materiales Genéticamente Modificados (GM); este documento se proporciona en esta solicitud y está a la disposición de los involucrados en las evaluaciones de algodón.

Durante todas las operaciones necesarias para el manejo de la tecnología **RF**, tanto antes, durante y después de las actividades agrícolas, se aplicarán las medidas de bioseguridad descritas en el Protocolo de Bioseguridad para Organismos Genéticamente Modificados (OGM) (**ANEXO 15. PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD GENERAL**).

La siembra de algodón **RF** se realizará únicamente en las zonas autorizadas por la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) y no se sembrará algodón **RF** en las zonas pertenecientes a ninguna Área Natural Protegida.

Medidas de bioseguridad:

- a) Se procederá a la localización georreferenciada de los lotes de los agricultores que siembren algodón **RF**.
- b) Se realizarán cursos de capacitación a todo el personal involucrado en el proceso de producción con el objeto de que toda persona relacionada con el cultivo conozca las posibles implicaciones, riesgos y beneficios de uso y manejo del algodón **RF**.
- c) Se proporcionará la asistencia técnica necesaria a los agricultores para un adecuado manejo del cultivo.
- d) Se notificará por escrito a la DGSV sobre cualquier situación durante el desarrollo del cultivo que pueda pudiera incrementar o disminuir los posibles riesgos para el ambiente, la diversidad biológica y/o la salud humana.

IV.a.1. Plan de monitoreo detallado

La siembra de algodón GM se realizará únicamente en las zonas autorizadas por los Permisos de Liberación al Ambiente, para efectos de los monitoreos propuestos a realizar:

- Se georreferenciarán las aduanas, almacenes y distribuidores, zonas autorizadas y lotes de los agricultores que siembren algodón GM.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- **Monitoreo de Plantas Voluntarias.** Después de la cosecha de predios sembrados con algodón GM, se inspeccionan los predios y la zona aledaña a los predios cosechados en busca de plantas voluntarias. En el caso de detectarse la presencia de plantas voluntarias, se procede a su destrucción por métodos mecánicos o químicos con herbicidas distintos al glifosato.
- **Monitoreo y prácticas del manejo de resistencia en malezas.** Monsanto está comprometido al uso apropiado y la efectividad de herbicidas a través de un programa de manejo responsable de productos y tecnologías consistente en cuatro partes principales: desarrollar recomendaciones apropiadas para el control de malezas, continuar la investigación para refinar y actualizar recomendaciones, educación de la importancia de las prácticas de buen manejo de malezas, y responder a consultas referentes al control de malezas a través de un programa de evaluación de desempeño del producto. Las recomendaciones técnicas son comunicadas a los productores durante los programas de capacitación, a través de la Guía Técnica de Uso de los Productos y mediante de las licencias/contratos para el uso de las tecnologías y productos Monsanto. Los principales componentes del programa consisten en:
 - a. Monitorear los predios antes y después de la aplicación de herbicidas.
 - b. Comenzar con un predio limpio, mediante la aplicación de un herbicida o rastreo.
 - c. Controlar malezas en etapa temprana y cuando las malezas son pequeñas.
 - d. Usar el producto herbicida correcto a la dosis correcta y al tiempo óptimo para control eficiente.
 - e. Añadir otro herbicida (por ejemplo un selectivo y/o un residual) y prácticas culturales (por ejemplo barbecho o rotación de cultivos) como parte del sistema **Solución Faena Flex® (RF)** para el programa de control de malezas.
 - f. Incorporar otros herbicidas en un sistema continuo por medio de la rotación de cultivos.
 - g. Controlar escapes de maleza y evitar que la maleza genere semilla.
 - h. Limpiar el equipo antes de moverlo de un predio a otro para minimizar la diseminación de la semilla de maleza (así como nematodos, insectos y otras plagas del algodón).
 - i. Usar semilla comercial nueva, lo más limpia posible de semilla de maleza.
- Contactar al representante de Monsanto o al distribuidor local, si suceden problemas en el control de la maleza.
- Se anexa la Guía de Uso de Productos Monsanto que se entrega a los usuarios de la tecnología en las reuniones con el personal involucrado en la operación de los programas de algodón biotecnológico (**ANEXO 16. GUÍA TÉCNICA DE USO DE TECNOLOGÍAS MONSANTO**).

IV.a.2. Estrategias de monitoreo posteriores a la liberación

Con fundamento a toda la extensa documentación científica arbitrada sobre los posibles efectos en una gran variedad de organismos no blanco que han sido expuestos a la proteína CP4 EPSPS, se ha demostrado que dicha proteína expresada en estos productos no exhiben efectos ni producen cambios detectables a poblaciones de organismos no blanco expuestos a los niveles de proteína CP4 EPSPS expresados en los tejidos vegetales de los cultivos GM.

A lo largo de los ciclos de siembra autorizados, se han realizado estudios de búsqueda de poblaciones silvestres de *Gossypium hirsutum*, así como para verificar la presencia de la especie *Gossypium barbadense* en las regiones algodoneras del norte de México. Estos estudios incluyeron las zonas de predios agrícolas y los alrededores de los sitios de liberación potencial. En ninguno de los estudios realizados se han encontrado poblaciones silvestres de especies de algodón (**Ver la carpeta estudios de Parientes Silvestres México**).

Es muy escasa la probabilidad de que la cruce de las especies diploides produzca híbridos fértiles al cruzarse con variedades cultivadas tetraploides de *Gossypium hirsutum*. Además, no se esperan consecuencias de los potenciales eventos de entrecruzamiento entre el algodón **RF** y algodones convencionales. Esto se debe al limitado movimiento del polen del algodón, la inocuidad de las proteínas conferidas y la carencia de ventaja selectiva que pudiera ser conferida a poblaciones ferales o especies relacionadas; si la polinización ocurriese el gen se encontraría en la semilla y en la planta receptora no se expresarían los genes introducidos.

También se ofrecerá asesoría especializada a los productores y cursos de capacitación respecto del uso y manejo de las tecnologías de Monsanto. De esta manera se puede tener un mejor control de las posibles situaciones en campo.

Por otro lado, la producción algodонера se lleva a despepites para obtención de la fibra y las semillas se destinan a obtención de aceite y/o pasta empleada como suplemento alimenticio en nutrición animal. Además, como medida de bioseguridad, se realizan monitoreos de plantas voluntarias y se eliminan por métodos mecánicos o químicos, disminuyendo de esta manera la posibilidad de intercambio.

IV.a.3. Estrategias para la detección del OGM y su presencia posterior en la zona de la liberación y zonas vecinas, una vez concluida la liberación

Al final de cada periodo de cultivo, se inspeccionará la zona aledaña a los predios de algodonero en busca de plantas voluntarias. En el caso de detectarse la presencia de una planta voluntaria, se procederá a su destrucción mediante métodos mecánicos o químicos con herbicidas distintos al glifosato.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

IV.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

Transporte de la semilla

a) La semilla será movilizada por vía terrestre mediante camiones y para su manejo se seguirán las medidas de bioseguridad descritas en el punto 1 (Transporte y almacenamiento de material vegetal experimental modificado por ingeniería genética) del Protocolo de Bioseguridad para Organismos Genéticamente Modificados (OGM).

b) Las semillas de algodón **RF** serán transportadas en bolsas de papel resistentes a la manipulación, selladas para prevenir cualquier derrame desde el origen hasta las bodegas y/o sitios autorizados para la liberación al ambiente.

c) Al documentar los embarques de semilla, se harán todas las especificaciones pertinentes a la compañía transportadora para que el material sea maniobrado con cuidado y evitar rompimiento, mutilación o daño físico de las bolsas. Los envases (bolsas) estarán claramente identificados mediante etiquetas visibles. Para mayor detalle ver el **ANEXO 15. PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD GENERAL.**

d) Los envases (bolsas) estarán claramente identificados mediante etiquetas visibles.

Etiquetado de los envases

Todos los envases individuales estarán etiquetados con la siguiente información en idioma español:

- **Nombre comercial:** Algodón Solución Faena Flex®.
- **Nombre del evento:** MON-88913-8
- **Identificador único OECD:** MON-88913-8.
- **Característica:** El algodón Solución Faena Flex® (MON-88913-8) contiene dos copias del gen *cp4 epsps* de *tumefaciens* cepa CP4 que le brindan tolerancia al herbicida glifosato.
- **Tipo de material que se envía:** Semilla
- **Contenido neto:** Dependiendo del tamaño de la semilla, cada bolsa contiene 250,000 semillas con un peso que varía de 21 a 25 kg/bolsa.
- **Nombre, dirección y teléfono del proveedor de la semilla:**

Si se utiliza un envase secundario (embalaje) éste también se etiquetará de manera visible con la información del inciso anterior y especificará la cantidad de envases individuales que contiene.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Documentación para el transporte de la semilla de algodón RF.

- a) Lista de inventario de todos los envases, embalajes y materiales que se envían especificando la fecha de envío.
- b) Guía original de transporte especificando claramente la fecha de envío.
- c) La guía de transporte y la lista de inventario debe enviarse vía fax o correo electrónico a la persona autorizada para recibir la semilla con anticipación al envío.
- d) El exportador debe mantener copias de todos los documentos que acompañan el envío, incluyendo copia del permiso de importación y del certificado fitosanitario internacional.
- e) Todos los documentos relacionados con el transporte de la semilla de algodón **RF** deben mantenerse bajo resguardo.

Recepción de los materiales transportados.

- a) Verificación de la lista de inventario.
- b) Los materiales deben mantenerse en un lugar seguro hasta que se confirme que la lista de inventario enviada coincide físicamente con los materiales recibidos.
- c) Verificar el estado de los envases y confirmar que los sellos de seguridad no fueron abiertos.
- d) En caso de que los envases hayan sido abiertos se debe comprobar que no se haya perdido el material, verificando el peso o cantidad de semilla enviada⁷.

Medidas en caso de una liberación accidental durante el transporte.

- a) En caso de derrame accidental de semilla durante el transporte, la empresa transportadora tendrá indicaciones para que se recoja la semilla derramada y mantengan el material bajo resguardo hasta que Monsanto sea notificada.
- b) Notificar a todas las personas autorizadas y con capacidad de decisión con relación al algodón **RF**.
- c) Si es posible, hacer todos los esfuerzos por recuperar el material liberado y destruirlo inmediatamente.
- d) Se identifica plenamente el sitio del accidente y se establece un programa de monitoreo por un período de un año para identificar la presencia de plántulas y proceder a su destrucción inmediata por métodos mecánico o químico (herbicidas).
- e) Se debe notificar a la autoridad competente acerca de la liberación accidental.
- f) Se deben documentar exhaustivamente todas las acciones anteriores incluyendo la hora y la fecha de cada acción.

⁷ Cuando se trate de un OGM de importación se debe considerar que en las inspecciones que realiza la SAGARPA en las aduanas de entrada al país generalmente se toman muestras para análisis fitosanitario.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- g) Informar a la autoridad competente sobre el plan de acción que se implementará.

Procedimiento para el almacenamiento de la semilla de algodón RF.

- a) El área destinada para almacenar la semilla de algodón **RF** debe ser, identificada en forma clara.
- b) El área destinada para el almacenamiento de la semilla debe ser limpiada exhaustivamente antes y después del periodo de almacenamiento.
- c) Las entradas y salidas de material deben ser debidamente documentadas en el inventario del almacén.

De esta manera, se minimizan los riesgos de liberaciones no deseadas. En caso de ocurrir algún accidente o liberación no deseada, Monsanto se compromete a informar a la autoridad y a tomar las medidas correspondientes para mitigar dicha liberación.

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 dicha zona o zonas

Tomando en cuenta las medidas de bioseguridad señaladas en los incisos del punto **IV. MEDIDAS Y PROCEDIMIENTOS DE MONITOREO DE LA ACTIVIDAD Y DE BIOSEGURIDAD** de esta solicitud, y dadas las características fenotípicas, fenológicas y reproductivas del cultivo del algodón (que no se modifican en el algodón **RF**), el cruzamiento de variedades tetraploides de algodón **RF** con especies silvestres diploides resulta altamente improbable. Aunque el cruzamiento natural es posible, el algodón es normalmente considerado un cultivo que se autopoliniza (Niles y Feaster, 1984).

Basados en la estructura floral, no existen barreras morfológicas a la polinización cruzada. Sin embargo, el polen es pesado y pegajoso y su dispersión por el viento es muy limitada. El polen se puede transferir por insectos, en particular abejas silvestres, abejorros y abejas mieleras. Sin embargo, las especies silvestres del género *Gossypium* son diploides, mientras que las variedades cultivadas de *Gossypium hirsutum* y *G. barbadense* son tetraploides. Esta diferencia de ploidía dificulta los entrecruzamientos, ya que pocas especies diploides producen semillas híbridas cuando son polinizadas con polen de algodón tetraploide.

Literatura reciente sobre algodón muestra que la frecuencia de polinización cruzada disminuye al aumentar la distancia de la planta a la fuente de polen. McGregor (1976) rastreó el movimiento de polen por medio de marcaje con partículas fluorescentes y encontró que, incluso entre flores localizadas a 150-200 pies de un campo de algodón rodeado de numerosas colonias de abejas para asegurar una buena oportunidad de transferencia de polen, las partículas se detectaron sólo en 1.6% de las flores.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

En caso de presentarse polinización efectiva (el polen del algodón sólo es viable durante 24 horas y presenta poca capacidad de dispersión), las plantas híbridas triploides resultantes no podrían propagarse. Esto porque aunque usualmente crecen y desarrollan terminaciones florales, no forman polen viable debido a que los pares están desbalanceados y a la segregación de los cromosomas. Esto es de gran importancia porque en la evolución de las plantas, la ploidía se ha incrementado a partir de tales hibridaciones y se ha establecido que el *Gossypium* tetraploide (algodón cultivado) se originó de esta manera. Sin embargo, las observaciones empíricas indican que el proceso en este género es extremadamente raro y está ejemplificado por una sola ocurrencia.

Todas las especies conocidas de *Gossypium* diferentes a las tetraploides poseen el mismo número de cromosomas ($n=13$). No se ha generado en la naturaleza otra ploidía en este género que haya sobrevivido hasta nuestros días. Esto es particularmente importante para México debido a que las especies tetraploides y diploides han coexistido por más de un millón de años (Wendel, 1989) y no se tienen registro de especies hexaploides, lo cual apoya la baja probabilidad de entrecruzamiento del algodón cultivado con sus parientes silvestres.

Las consecuencias ambientales de la transferencia de polen del evento **RF** a otros algodones son consideradas despreciables debido a la limitada movilidad del polen del algodón, la inocuidad de las proteínas introducidas y la falta de cualquier ventaja selectiva conferida en la planta de algodón receptora. Se estima que el flujo génico interespecífico ocurra a niveles muy bajos, disminuyendo rápidamente a casi cero con el incremento de la distancia entre la fuente de polen y los receptores. En general, el potencial de entrecruzamiento con parientes silvestres es poco probable debido al relativo aislamiento de la distribución de especies del género *Gossypium*, diferentes sistemas de cruzamiento e incompatibilidad genética.

Finalmente, el evento **RF** (MON-88913-8) no exhibe ninguna característica fenotípica que pudiese incrementar su supervivencia en hábitats no agrícolas, o en áreas fuera del rango geográfico de la producción de algodón. En el caso remoto caso de que se llegasen a formar híbridos entre este evento y parientes silvestres, la introducción de la característica de tolerancia a glifosato a especies en hábitats no agrícolas no conferiría ventaja competitiva alguna, dado que la tecnología funciona como una protección ante estímulos externos como la presión de insectos y aplicaciones de glifosato, en cuya ausencia no habría resultados visibles en comparación con algodón convencional (**Ver Carpeta de Reportes USDA**).

No se permitirá el acceso a los predios donde se establezcan los estudios experimentales a ninguna persona que no esté debidamente acreditada por Monsanto.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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

La siembra de algodón **RF** se realizará únicamente en las zonas autorizadas por la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) y no se sembrará algodón **RF** en las zonas pertenecientes a ninguna Área Natural Protegida.

Por otro lado, los agricultores cooperantes firman una **Licencia (ANEXO 17. Licencia agricultores)** para el uso de la tecnología genética de Monsanto. Al firmar, el agricultor se compromete a utilizar dicha tecnología de conformidad con los términos y condiciones establecidos en la **GUÍA TÉCNICA DE USO DE TECNOLOGÍAS MONSANTO (ANEXO 16)**.

Uno de los pilares del programa de seguimiento y manejo responsable de tecnologías (Stewardship) de Monsanto es el de proveer capacitación a todas las personas involucradas con el manejo organismos genéticamente modificados así como soporte técnico a los agricultores usuarios de cultivos biotecnológicos. Dichos entrenamientos y capacitaciones se llevan a cabo mediante presentaciones en reuniones con personal técnico de Monsanto, agentes aduanales, responsables de almacenes, distribuidores, despepites y agricultores y/o mediante la distribución de materiales impresos conocidos como Guías Técnicas Monsanto (**ANEXO 16**).

Adicionalmente, y como parte de un programa continuo, se llevan a cabo cursos de capacitación a todo el personal involucrado en el proceso de producción sobre mejores prácticas agrícolas, responsabilidades regulatorias, beneficios y uso responsable del algodón biotecnológico. En cada evento se genera un registro de asistencia que funciona como evidencia y como memoria institucional.

Como parte de las actividades previas al ciclo de siembra de algodón PV-2013 en **Tamaulipas**, se llevarán a cabo una serie de eventos que nos permiten asegurar que todos los involucrados en el manejo del algodón GM están al tanto del manejo correcto así como de sus responsabilidades para cumplir con los requisitos regulatorios.

Sin embargo, en caso de derrame accidental de semilla durante el transporte:

- a) La empresa transportadora tendrá indicaciones para que se recoja la semilla derramada y mantengan el material bajo resguardo hasta que Monsanto sea notificada.
- b) Notificar a todas las personas autorizadas y con capacidad de decisión con relación al algodón **RF**.
- c) Si es posible, hacer todos los esfuerzos por recuperar el material liberado y destruirlo inmediatamente.
- d) Se identifica plenamente el sitio del accidente y se establece un programa de monitoreo por un período de un año para identificar la presencia de plántulas y

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

proceder a su destrucción inmediata por métodos mecánico o químico (herbicidas).

e) Se debe notificar a la autoridad competente acerca de la liberación accidental.

Monsanto cuenta con un Protocolo de Bioseguridad, cuyo objetivo principal es el de proveer los lineamientos de las mejores prácticas y recomendaciones generales para el transporte, manejo, evaluación y disposición de materiales Genéticamente Modificados (GM); este documento se proporciona en esta solicitud y está a la disposición de los involucrados en las evaluaciones de algodón.

Durante todas las operaciones necesarias para el manejo de la tecnología **RF**, tanto antes, durante y después de las actividades agrícolas, se aplicarán las medidas de bioseguridad descritas en el Protocolo de Bioseguridad para Organismos Genéticamente Modificados (OGM) (**ANEXO 15. PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD GENERAL**).

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

La semilla de algodón **RF** se sembrará en campos de agricultores participantes en el programa experimental y las prácticas culturales y agronómicas se realizarán siguiendo las prácticas comerciales de producción de algodón y/o las guías técnicas para el cultivo del algodón desarrollado por investigadores del INIFAP en la región (**Tablas 5**). Además el transporte desde las aduanas hasta el productor se realizará en estricto apego a los lineamientos del **PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD GENERAL (ANEXO 15)**.

Por otro lado, la producción algodonera (GM y convencional, sin distinción) se lleva a despepites para obtención de la fibra y las semillas se destinan a obtención de aceite y/o pasta empleada como suplemento alimenticio en nutrición animal. Además, como medida de bioseguridad, se realizan **monitoreos de plantas voluntarias** y se eliminan por métodos mecánicos o químicos, disminuyendo de esta manera la posibilidad de intercambio. Por lo tanto, juzgamos que no es necesario aislar los predios, ya que la tecnología ha demostrado su seguridad en estudios de laboratorio y en los programas agronómicos conducidos en las regiones algodoneras de México y el mundo.

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

La semilla de algodón **RF** se sembrará en campos de agricultores participantes en el programa experimental y las prácticas culturales y agronómicas se realizarán siguiendo las prácticas comerciales de producción de algodón y/o las guías técnicas para el cultivo del algodón desarrollado por investigadores del INIFAP en la región (**Tabla 5**). Además el transporte desde las aduanas hasta el productor se realizará en estricto apego a los lineamientos del **PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD GENERAL (ANEXO 15)**.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Por otro lado, las líneas de algodón **RF** han sido modificadas genéticamente para expresar la proteína CP4 EPSPS de *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4. Esta proteína les confiere tolerancia al herbicida glifosato, respectivamente. Antes de introducir las variedades de algodón **RF** al mercado se han estudiado exhaustivamente en relación a su inocuidad para el consumo humano y animal. Las instituciones responsables de esta evaluación en los Estados Unidos (USDA-APHIS, FDA, EPA) y México (Secretaría de Salud) han dictaminado la inocuidad del algodón **RF** y aprobado su consumo humano y animal.

En estos países, Monsanto ha presentado las evidencias científicas que demuestran que los productos derivados del algodón **RF** son sustancialmente equivalentes en composición, propiedades funcionales, nutricionales y de seguridad en relación a los derivados de las variedades de algodón convencionales y difieren únicamente en su capacidad de tolerar la acción del herbicida glifosato. Asimismo, Monsanto (el promovente) cuenta con autorización por parte de la Secretaría de Salud para comercializar la semilla de algodón **RF** para su procesamiento industrial y para consumo humano y/o alimentación de ganado (**ANEXO 18. Permiso de Secretaría de Salud para RF**).

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

a) Cosecha del algodón Solución Faena Flex® (RF).

El algodón **RF** será cosechado como tradicionalmente se ha hecho por productores de algodón, ya que se ha demostrado que no existen diferencias en componentes agronómicos y calidad entre el algodón **RF** y convencional. Monsanto cuenta con autorización por parte de la Secretaría de Salud para comercializar la semilla de algodón **RF** para su procesamiento industrial y/o alimentación de ganado.

Las líneas de algodón **RF** han sido modificadas genéticamente para expresar la proteína CP4 EPSPS de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4, lo cual les confiere tolerancia al herbicida FAENA FUERTE CON TRANSORB®. Antes de introducir las variedades de algodón **RF** al mercado se han estudiado exhaustivamente en relación a su inocuidad para el consumo humano y animal. Las instituciones responsables de esta evaluación en los Estados Unidos (USDA-APHIS, FDA, EPA) y México (Secretaría de Salud) han dictaminado la inocuidad del algodón **RF** y aprobado su consumo humano y animal. En estos países, Monsanto ha presentado las evidencias científicas que demuestran que las variedades de algodón **RF** son sustancialmente equivalentes en composición, propiedades funcionales, nutricionales y de seguridad en relación a los derivados de las variedades de algodón convencionales y difieren únicamente en su capacidad de tolerar la acción del herbicida Faena Fuerte con Transorb®.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

b) Manejo de cosecha.

Las empresas despepitadoras firmarán un convenio en los mismos términos que los agricultores para que la semilla de algodón **RF** cosechada no sea enajenada a terceros y se destine a su procesamiento industrial o alimentación de ganado. Despepites autorizados en la región de **Tamaulipas (Cuadro 3)**:

Cuadro 3. Despepites autorizados para la región de Tamaulipas.

Región	Despepite	Dirección	Latitud	Longitud
Tamaulipas	Unión de Algodoneros las Yescas	Carretera 120, km 92, Ejido Álvaro obregón, Valle Hermoso, Tamaulipas. C.P. 87500	25.57267	-97.81892

c) La industrialización de la semilla de algodón.

Cuando el algodón llega a la planta beneficiadora, ésta inmediatamente es pesada para saber la cantidad de algodón entregada por cada productor, que debe llegar con un máximo del 11% de humedad, el algodón en este estado se le llama algodón rama, que es depositado en bodegas, luego, éste a través de tuberías llega a la desmotadoras, las cuales son alimentadas por tornillos sin fin, la maquina desmotadora separa casi completamente la fibra de la semilla, luego la fibra es compactada para formar pacas, de un peso que varía entre los 181.81 y 227.27 kg, luego se clasifican las fibras de las pacas de acuerdo a la calidad (en base a la elasticidad, grosor y largo de la fibra), el rendimiento para convertir algodón rama en algodón oro, es aproximadamente de 113.63 - 119.54 kg de algodón rama para 45.45 kg de algodón oro.

La semilla está recubierta por una vellosidad llamada linter, la semilla con linter es vendida para consumo animal, cuando es separado el linter de la almendra el linter es utilizado para la elaboración de colchones, almohada, etc., y de la almendra se extrae el aceite comestible, obteniendo también como resultado, la torta de semilla de algodón.

Otro de los aprovechamientos de la planta del algodón, es la extracción de aceite de la semilla. Dentro de cada capullo de algodón se localizan de seis a diez semillas, cuyo peso es de alrededor de las dos terceras partes del peso total del capullo. Los productos obtenidos en promedio durante el proceso de extracción de aceite son: aceite 16.5%, pasta o harinolina 45.5%, cascarilla 25%, borra 8% y materia desechable 5%.

d) Manejo de los restos del cultivo.

Los restos de las plantas de algodón son eliminados después de la cosecha mediante una práctica cultural conocida como desvare, en el marco de las acciones de la campaña contra plagas del algodoneero coordinadas por la SAGARPA. Esta práctica tiene como objetivo eliminar posibles larvas invernantes de gusano rosado y adultos de picudo del algodón presentes en los restos de las plantas de algodón. La práctica de desvare es obligatoria para todos los agricultores.

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

V.a. Descripción de la zona en donde se realizó la liberación

El evento de algodón **RF** se ha liberado y se han realizado cientos de ensayos de campo llevadas a cabo desde 2002 a la fecha, en Australia, Argentina, Brasil, Colombia, India, Sudáfrica, Estados Unidos (incluyendo Puerto Rico) y México, para probar sus características agronómicas, parámetros fenotípicos y eficacia. El algodón biotecnológico **RF** ha sido liberado en las regiones algodoneeras del norte de México durante varios ciclos agrícolas (**Tabla 14**). A continuación se resumen las liberaciones de esta tecnología en las diferentes regiones.

En resumen, los resultados de las evaluaciones y antecedentes de siembra de algodón Bollgard®, Bollgard®/Solución Faena® y Solución Faena® durante el periodo 1996 – 2011, y de Bollgard®II/Solución Faena Flex® y Solución Faena Flex® durante el periodo 2004 – a la fecha; permiten estimar el gran potencial de las variedades de algodón **Solución Faena Flex®** como una excelente herramienta para el manejo de plagas y maleza del algodón de una manera más económica y más compatible con el ambiente, contribuyendo a reducir los costos de producción del cultivo, las aplicaciones de insecticidas y herbicidas residuales, así como las grandes cantidades de envases de plástico utilizados para contenerlos en el campo, y obtener un mejor rendimiento de fibra de algodón. Adicionalmente, durante las evaluaciones, no se ha reportado ningún efecto adverso en el ambiente en general ni tampoco en la diversidad biológica, ni en la sanidad animal, vegetal y acuícola. Estas observaciones son consistentes con los resultados obtenidos en todas las regiones algodoneeras del mundo donde se cultivan variedades de algodón biotecnológico.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Tabla 10. Permisos de liberación al ambiente correspondientes a los ciclos agrícolas en los que se ha liberado la tecnología RF en las regiones agrícolas del norte de México.

PERMISO	NÚMERO DE AUTORIZACIÓN	FECHA DE AUTORIZACIÓN
Región del Sur de Sonora		
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	776	25/02/2004
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	6415	16/12/2004
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.- 13595	19/12/2007
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.- 7541	16/01/2009
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 0177	19/01/2010
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 11710	20/12/2010
Región del Valle de Mexicali y San Luis Río Colorado		
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	776	25/02/2004
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	6415	16/12/2004
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.- 1517	14/02/2008
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.- 7540	18/12/2008
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 01317	05/03/2010
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 0603	4/02/2011
Permiso Comercial para la región conjunta de Sonora Sur – Mexicali y San Luis Río Colorado		
Permiso de liberación al ambiente (Comercial)	B00.04.03.02.01.-11457	13/12/2011
Región del Norte de Tamaulipas		
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	776	25/02/2004
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	6415	16/12/2004
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.- 02395	7/03/2008
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.- 01116	18/02/2009
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 0605	4/02/2011
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 11630	16/12/2011
Región de la Comarca Lagunera		
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	776	25/02/2004
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	6415	16/12/2004

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.-0039	04/04/2007
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.-1446	11/02/2008
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.04.03.02.01.-1123	18/02/2009
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.-1898	24/03/2010
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 0606	4/02/2011
Región del Estado de Chihuahua		
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	776	25/02/2004
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	6415	16/12/2004
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.- 03811	17/04/2007
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.01.04.- 02394	03/03/2008
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.04.- 1121	18/02/2009
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.- 1970	25/03/2010
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 1373	25/02/2011
Permiso Comercial para la región conjunta de Chihuahua – Comarca Lagunera (Polígonos A, B y C)		
Permiso de liberación al ambiente (Comercial)	B00.04.03.02.01.-11455	13/12/2011
Permiso Experimental para la región conjunta de Chihuahua – Comarca Lagunera (Polígonos nuevos)		
Permiso de liberación al ambiente (experimental)	B00.04.03.02.01.-01985	24/02/2012
Región del Norte de Sonora		
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	776	25/02/2004
Certificado fitosanitario de liberación al ambiente (experimental)	6415	16/12/2004
Permiso de Liberación al Ambiente (experimental)	B00.01.04.-05807	31/05/2007
Permiso de Liberación al Ambiente (experimental)	B00.01.04.-01516	14/02/2008
Permiso de Liberación al Ambiente (experimental)	B00.04.-1118	03/03/2009
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 1376	25/02/2011
Permiso de liberación al ambiente (piloto)	B00.04.03.02.01.- 01243	27/02/2012
Región de Sinaloa		
Permiso de Liberación al Ambiente (experimental)	B00.04.03.02.01.-8836	30/09/2011
Región de Tamaulipas Sur		
Permiso de Liberación al Ambiente (experimental)	B00.04.03.02.01.-4033	30/05/2012

V.b. Efectos de la liberación sobre la flora y fauna

Los estudios sobre comportamiento agronómico, caracterización bioquímica y características fenotípicas y fenológicas del algodón biotecnológico **RF**, realizados en las zonas algodoneras del norte de México desde 2004 a la fecha, demuestran que ninguno de los atributos reproductivos, capacidad de supervivencia o latencia se modifica como resultado de las características conferidas por la modificación genética. Esto debido a que la única característica nueva es la tolerancia a glifosato, producto de la inserción de la proteína CP4 EPSPS de *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4. En este sentido, las plantas de algodón **RF** no son diferentes de las plantas convencionales, que a su vez también son completamente dependientes del hombre y no pueden prosperar por sí mismas dadas sus limitaciones de dispersión de polen y semilla.

No se espera que la característica de tolerancia a glifosato otorgue al algodón ventajas adaptativas en hábitats naturales, en condiciones naturales o dentro de un agroecosistema. La similitud de las características de las plantas **RF** con el algodón convencional se ha ratificado durante varios años en ensayos de campo, y programas comerciales donde se han autorizado, lo que nos permite concluir que ***no existen ventajas adaptativas o un mayor potencial de convertirse en plaga en el evento RF como consecuencia de la modificación genética.***

Las características reproductivas no han sido alteradas en el evento **RF** como consecuencia del proceso de transformación cuando se lo compara con el algodón convencional.

Inocuidad de la proteína introducida CP4 EPSPS

CP4 EPSPS

La bacteria *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4 es un microorganismo presente comúnmente en el suelo y en la rizósfera de las plantas. Únicamente el gen *cp4 epsps* de esta bacteria fue transferido para producir las líneas de algodón tolerantes al herbicida Faena Ultra®. La secuencia del ADN transferido y de la proteína producida es completamente conocida y se encuentra presente en todas las plantas y en la mayoría de los microorganismos que comúnmente son parte de nuestra dieta, y no existe evidencia de que esta proteína pueda causar algún efecto negativo en la salud humana o de cualquier otro vertebrado. Adicionalmente, no se espera que los humanos estén expuesto a la proteína CP4 EPSPS expresada por el algodón **RF**, ya que el aceite derivado del algodón utilizado para el consumo humano no contiene esta proteína (Fuchs, 1994).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

La proteína CP4 EPSPS no presenta homología con las secuencias de aminoácidos de las proteínas tóxicas y alergénicas de las bases de datos Pir Protein, Swissprot (Bairoch y Boeckmann, 1993) y Genpept (Benson *et al.*, 1993). La secuencia de aminoácidos o regiones de alta homología entre dos o más proteínas puede proveer información importante sobre la actividad biológica de una proteína. Es decir, la secuencia de aminoácidos puede proveer información acerca de las propiedades estructurales, hidrofóbicas e hidrofílicas, inmunogenicidad, estabilidad y la posible función de la proteína identificada. El uso de bases de datos ha demostrado ser una excelente herramienta para predecir la función biológica de proteínas desconocidas. La secuencia de la proteína CP4 EPSPS fue comparada con las secuencias peptídicas identificadas como “alérgenos” y “toxinas” de todas las bases de proteínas disponibles para identificar si la proteína CP4 EPSPS tiene alguna homología con alérgenos o toxinas. Los resultados muestran que no existe ninguna homología significativa entre las secuencias de los alérgenos y toxinas conocidas y la secuencia de la proteína CP4 EPSPS. La conclusión de que esta proteína no es tóxica está apoyada en los resultados de estudios de toxicología aguda en ratones, donde no se encontró ninguna evidencia de efectos tóxicos en los animales de prueba cuando se administró una dosis de 572 mg/kg de la proteína CP4 EPSPS (Naylor, 1993).

La introducción de variedades de algodón **RF** tolerantes al herbicida glifosato no presenta ningún riesgo de provocar reacciones alérgicas. El aceite de la semilla de algodón es el producto más utilizado para el consumo humano y los análisis del aceite derivado de variedades **RF** confirmaron que no existe proteína CP4 EPSPS detectable en el aceite para uso industrial (Fuchs, 1994). Con base en estos resultados no se espera un consumo humano significativo de esta proteína. Adicionalmente, la secuencia de aminoácidos de la proteína CP4 EPSPS no muestra homología con ninguna de las secuencias de los alérgenos en las tres bases de datos de proteínas actuales (Mitsky, 1993; Genpet, Pir protein y Swissprot) y, por lo tanto, se concluye que la proteína CP4 EPSPS no presenta ningún potencial alergénico para los humanos. Adicionalmente, la proteína CP4 EPSPS es rápidamente desnaturalizada por el calor y la digestión enzimática y ácida en fluidos gástricos simulados (ANZFA, 2001b).

La proteína CP4 EPSPS purificada en dosis agudas de 572 mg/kg de peso corporal no produjo efectos adversos en ratones. Esta dosis representa más de 1000 veces el consumo potencial previsto de CP4 EPSPS en alimentos derivados de todos los cultivos GM que expresan esta enzima bajo desarrollo por Monsanto en ese tiempo (soya, papa, tomate, maíz) (Harrison *et al.*, 1996).

Las instituciones responsables de esta evaluación en los Estados Unidos (USDA-APHIS, FDA, EPA) y México (Secretaría de Salud) han dictaminado la inocuidad del algodón RF y aprobado su consumo humano y animal.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Potencial como maleza

El algodón convencional (*Gossypium hirsutum* L.) ha sido caracterizado extensivamente y tiene una larga historia de producción agrícola segura. Las semillas son las únicas estructuras supervivientes y es poco probable que el algodón sobreviva como maleza debido a que esta especie ha sido el resultado de procesos de selección artificial dirigida.

La información colectada a través de estudios de campo en México y otros países, indica que el desempeño agronómico del evento **RF** es similar al de la línea parental convencional. A través de esta información se ha concluido que dicho evento no presenta ningún riesgo adicional de convertirse en maleza, con respecto al cultivo convencional (**Ver carpeta de Reportes USDA**).

Baker (1965) desarrolló un consenso general respecto a los rasgos comunes de malezas: ciclo anual, alta producción de semillas, alto porcentaje de germinación y poca dormancia, varias generaciones por año, gran capacidad de dispersión y extrema susceptibilidad a un herbicida en particular. El algodón no posee estas características de maleza y se define tradicionalmente como un cultivo que se autopoliniza (Niles y Feaster, 1984). Basados en la estructura floral de las plantas de algodón, no existen barreras morfológicas a la polinización cruzada. Sin embargo, el polen es pesado y pegajoso y su dispersión por el viento es muy limitada. Además, el polen del algodón sólo es viable durante 24 horas, lo cual presenta una barrera adicional a la reproducción y confirma el inexistente potencial de que el algodón se convierta en una maleza, ya que no cumple con las características de alta dispersión que poseen este tipo de plantas.

La falta de efectos no intencionales sobre la germinación y dormancia, factores predominantes que limitan el potencial de maleza, confirma que es improbable que el algodón **RF** se convierta en maleza. Por otro lado, las consecuencias agronómicas de las plantas voluntarias de algodón serían mínimas, ya que estas plantas se controlan fácilmente por medios mecánicos o por uno o varios herbicidas registrados para algodón.

Las consecuencias ambientales de la transferencia de polen de algodón **RF** a otros algodones se consideran insignificantes debido a la limitada capacidad de movimiento del polen de algodón, la seguridad de las proteínas introducidas, y la falta de ventajas selectivas conferidas a la planta receptora. Sólo se esperaría transferencia de genes a otros algodones cultivados y en ese caso, en los niveles bajos, biológicamente normales para *Gossypium hirsutum*. Por lo tanto su capacidad de convertirse en maleza es nula.

El algodón **RF** es fenotípicamente igual que los algodones convencionales, tanto en México como en otras regiones del mundo. Los estudios sobre comportamiento agronómico, caracterización bioquímica y características fenotípicas y fenológicas realizadas en las regiones algodonerías del norte de México desde 2004 a la fecha, demuestran que ninguno de los

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

atributos reproductivos, capacidad de supervivencia o latencia se modifica como resultado de las características conferidas por la modificación genética.

No se espera que la característica de tolerancia a glifosato otorgue al algodón ventajas adaptativas en hábitats naturales, en condiciones naturales o dentro de un agroecosistema. La similitud de las características de las plantas GM con el algodón convencional se ha ratificado durante varios años en ensayos de campo y programas comerciales donde se ha autorizado, lo que nos permite concluir que no existen ventajas adaptativas o un mayor potencial de convertirse en plaga en este evento como consecuencia de la modificación genética.

Debido a lo anterior, ***el algodón RF no es considerado como una maleza y no representa un riesgo de convertirse en maleza más allá de lo que representarían los algodones convencionales.***

Potencial de flujo génico

Aunque el cruzamiento natural es posible, el algodón es normalmente considerado un cultivo que se autopoliniza (Niles y Feaster, 1984). Basados en la estructura floral, no existen barreras morfológicas a la polinización cruzada. Sin embargo, el polen es pesado y pegajoso y su dispersión por el viento es muy limitada. El polen se puede transferir por insectos, en particular abejas silvestres, abejorros y abejas mieleras.

Literatura reciente sobre algodón muestra que la frecuencia de polinización cruzada disminuye al aumentar la distancia de la planta a la fuente de polen. McGregor (1976) rastreó el movimiento de polen por medio de marcaje con partículas fluorescentes y encontró que, incluso entre flores localizadas a 150-200 pies de un campo de algodón rodeado de numerosas colonias de abejas para asegurar una buena oportunidad de transferencia de polen, las partículas se detectaron sólo en 1.6% de las flores.

Dadas las características fenotípicas, fenológicas y reproductivas del cultivo del algodón (que no se modifican en el algodón **RF**), el cruzamiento de variedades tetraploides de algodón **RF** con especies silvestres diploides resulta altamente improbable. Además, esta diferencia de ploidía dificulta los entrecruzamientos, ya que pocas especies diploides producen semillas híbridas cuando son polinizadas con polen de algodón tetraploide.

En caso de presentarse polinización efectiva (el polen del algodón sólo es viable durante 24 horas y presenta poca capacidad de dispersión), las plantas híbridas triploides resultantes no podrían propagarse. Esto porque aunque usualmente crecen y desarrollan terminaciones florales, no forman polen viable debido a que los pares están desbalanceados y a la segregación de los cromosomas. Esto es de gran importancia porque en la evolución de las plantas, la ploidía se ha incrementado a partir de tales hibridaciones y se ha establecido que el *Gossypium* tetraploide (algodón cultivado) se originó de esta manera. Sin embargo, las

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

observaciones empíricas indican que el proceso en este género es extremadamente raro y está ejemplificado por una sola ocurrencia.

Finalmente, todas las especies conocidas de *Gossypium* diferentes a las tetraploides poseen el mismo número de cromosomas ($n=13$). No se ha generado en la naturaleza otra ploidía en este género que haya sobrevivido hasta nuestros días. Esto es particularmente importante para México debido a que las especies tetraploides y diploides han coexistido por más de un millón de años (Wendel, 1989) y no se tienen registro de especies hexaploides, lo cual apoya la baja probabilidad de entrecruzamiento del algodón cultivado con sus parientes silvestres.

Las consecuencias ambientales de la transferencia de polen del evento **RF** a otros algodones es considerada despreciable debido a la limitada movilidad del polen del algodón, la inocuidad de las proteínas introducidas y la falta de cualquier ventaja selectiva conferida en la planta de algodón receptora. Se estima que el flujo génico interespecífico ocurra a niveles muy bajos, disminuyendo rápidamente a casi cero con el incremento de la distancia entre la fuente de polen y los receptores. En general, el potencial de entrecruzamiento con parientes silvestres es poco probable debido al relativo aislamiento de la distribución de especies del género *Gossypium*, diferentes sistemas de cruzamiento e incompatibilidad genética.

El evento **RF** (MON-88913-8) **no exhibe ninguna característica fenotípica que pudiese incrementar su supervivencia en hábitats no agrícolas**, o en áreas fuera del rango geográfico de la producción de algodón. En el caso remoto de que se llegasen a formar híbridos entre este evento y parientes silvestres, la introducción de la característica de tolerancia a glifosato a especies en hábitats no agrícolas no conferiría ventaja competitiva alguna, dado que la tecnología funciona como una protección ante estímulos externos como la presión de insectos y aplicaciones de glifosato, en cuya ausencia no habría resultados visibles en comparación con algodón convencional (**Ver Carpeta de Reportes USDA**).

V.c. Estudio de los posibles riesgos de la liberación de los OGMs presentado en el país de origen (descripción de las medidas y procedimientos de monitoreo de bioseguridad)

El algodón **RF**, evento MON-88913-8, se desarrolló vía transformación con *Agrobacterium tumefaciens* de la variedad de algodón Coker 312, para insertar un constructo con doble copia del gen *cp4 epsps* que codifica la enzima CP4 EPSPS. Esta proteína le confiere la característica de tolerancia a los herbicidas no selectivos de la familia Faena® (glifosato). En este evento, que contiene un inserto único, las características de la inserción y de las secuencias flanqueantes están conservadas. Aparte de tolerancia al herbicida, conferida

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

por la inserción del evento **RF**, no hay diferencias biológicamente significativas entre el algodón **RF** y su contraparte convencional.

En Estados Unidos, país de origen, se han realizado estudios acerca de la seguridad de la liberación del algodón biotecnológico evento **RF** y se han sometido documentos con los resultados a la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, Food and Drug Administration, por sus siglas en inglés), en los cuales se expone la seguridad ambiental y de consumo de las proteínas insertadas en el evento **RF**. Para la proteína CP4 EPSPS expresada en los algodones biotecnológicos que contienen la tecnología Solución Faena® o Solución Faena Flex® (como **RF**), se sometió información a la FDA acerca de la seguridad de la proteína CP4 EPSPS que incluyó estudios de desarrollo del evento, caracterización y niveles de expresión de la proteína, consumo aproximado, alergenicidad, similitud con secuencias de alérgenos y toxinas, simulaciones de digestión gástrica *in vitro*, composición proximal y nutricional (**ANEXO 6. Evaluación Solución Faena Flex FDA**).

V.d. En caso de que el promovente lo considere adecuado. Otros estudios o consideraciones en los que se analicen tanto la contribución del OGM a la solución de problemas ambientales, sociales, productivos o de otra índole

En el **ANEXO 6** se discuten estudios muy completos acerca de lo relacionado a la caracterización y seguridad del evento. Además, los estudios costo-beneficio realizados en los programas experimentales y pilotos en las regiones algodoneras del norte de México, demuestran el beneficio económico producto de la diferencia en rendimiento y ahorros en aplicaciones de insecticidas, herbicidas y actividades culturales.

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

A continuación se presenta la documentación que acredita que el OGM está permitido en el país de origen para su liberación al ambiente:

- a) Desregulación del algodón Solución Faena Flex® (MON-88913-8) por parte de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) del 8 de septiembre de 2008 (**ANEXO 19. Solución Faena Flex® FDA**).

- b) Desregulación del algodón Solución Faena Flex[®] (MON-88913-8) por parte del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés) del 8 de septiembre de 2008 (**ANEXO 20. Solución Faena Flex[®] USDA**).

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

El algodón Solución Faena Flex[®], evento MON-88913-8, se desarrollo vía transformación con *Agrobacterium tumefaciens* de la variedad de algodón Coker 312, para insertar un constructo con doble copia del gen *cp4 epsps* que codifica la enzima CP4 EPSPS. Esta proteína le confiere la característica de tolerancia a los herbicidas no selectivos de la familia Faena[®] (glifosato). En este evento, que contiene un inserto único, las características de la inserción y de las secuencias flanqueantes están conservadas. Aparte de tolerancia al herbicida, conferida por la inserción del evento **RF** (MON-88913-8), no hay diferencias biológicamente significativas entre el algodón **RF** y su contraparte convencional.

El algodón **RF** ofrece a los agricultores alternativas adicionales para aumentar la eficiencia del control de maleza en el cultivo de algodón. Hablando en general, el algodón **RF** no requiere cambios en las prácticas agronómicas, sin embargo, se esperan cambios específicos en las prácticas respecto al rasgo de tolerancia al herbicida glifosato. Esta característica provee los beneficios del producto. Los mayores beneficios del uso de la tecnología **RF** para los productores son:

- I. Control de un amplio espectro de especies de maleza: los herbicidas Roundup[®] (Faena[®]) controlan de manera eficiente y segura la maleza de hojas anchas y gramíneas, incluso las especies resistentes a otros herbicidas (Franz *et al.*, 1997).
- II. Mayor flexibilidad para el control de maleza: en los cultivos tolerantes a glifosato, éste es aplicado sobre la maleza después de la emergencia del cultivo. Las aplicaciones son necesarias sólo cuando la infestación de maleza alcanza niveles de daño económico, pudiendo reducir la productividad y la calidad del producto.
- III. Alta compatibilidad con técnicas de conservación de suelo: los beneficios del barbecho, preparación conservacionista de suelo, como plantío directo (Maschio, 2004; Embrapa, 2003; Mello, 2002), incluyen la mejora de la calidad del suelo, el aumento de la infiltración de agua, la reducción de la erosión y de sedimentos en las

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

fuentes de agua, la reducción de la pérdida de nutrientes y plaguicidas para las aguas superficiales, la mejora del hábitat para la vida silvestre, la mejora de la retención de carbono en el suelo, la reducción del uso de combustible y la utilización de prácticas agrícolas más sustentables (Warburton y Klimstra, 1984; Edwards *et al.*, 1988; Hebblethwaite, 1995; Reicosky, 1995; Reicosky y Lindstrom, 1995; Keeling *et al.*, 1998; CTIC, 1998; CTIC, 2000).

- IV. Uso de un herbicida con bajo riesgo para la salud humana: en las condiciones de uso de los productos registrados y en las recomendaciones técnicas, el glifosato no causa efectos adversos sobre la salud humana (U.S. EPA, 1993; WHO, 1995; Williams *et al.*, 2000).
- V. Disminución de los costos para el control de maleza: el costo del control realizado con glifosato es competitivo en relación al costo de opciones alternativas de control, especialmente en función de la gran eficacia del control de maleza. Tanto grandes como pequeños productores se benefician de esta tecnología de manera semejante.

Los resultados en países donde el algodón es producido por pequeños productores demuestran que esta tecnología trae beneficios tanto para los pequeños agricultores, con producción menos sofisticada, como también para los grandes agricultores, que practican una producción técnicamente más avanzada.

Las alternativas al uso de los eventos biotecnológicos de Monsanto son el uso de insecticidas y herbicidas alternos con el impacto al ambiente que esto supone.

VII. NÚMERO DE AUTORIZACIÓN EXPEDIDA POR SALUD CUANDO EL OGM TENGA FINALIDADES DE SALUD PÚBLICA O BIORREMEDIACIÓN

Se anexa la documentación que acredita que las variedades de algodón Solución Faena Flex® (RF) están permitidas para su industrialización y consumo humano en Estados Unidos (**ANEXO 18. Permiso de Secretaría de Salud para RF**).

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

La presente solicitud de liberación al ambiente en **ETAPA EXPERIMENTAL** para el organismo genéticamente modificado algodón **RF** (evento MON-88913-8) contempla el ciclo Primavera – Verano de 2013 en la región agrícola de **Tamaulipas Sur (y los 3 polígonos ubicados en el norte de Tamaulipas)**.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

La siembra de algodón **RF** está sujeta al periodo oficial de siembra establecido por la Delegación Estatal de la SAGARPA. Por tal motivo, **se solicita atentamente** que la vigencia del permiso **no se asigne de acuerdo a una fecha específica, sino que se adapte al periodo de siembra que determine dicha entidad, tomando en cuenta como finalización del ciclo agrícola la etapa de despepito y asimismo se considere la entrega de reportes finales a partir del último día de despepito.**

A. La cantidad de semilla a movilizar (importar), la ruta, las medidas de bioseguridad y condiciones de manejo durante el transporte

Para el ciclo agrícola PV-2013 en la región de Tamaulipas Sur se solicitan 2,500 hectáreas y 35,938 kg de semilla de algodón **RF** para sembrarse a una densidad de 14 kg/ha (**Cuadro 2, pag. 59 de esta solicitud**).

Ruta de movilización

Monsanto importa la semilla de algodón biotecnológico de Estados Unidos de acuerdo a la cantidad especificada en el permiso correspondiente y se almacena en los almacenes especificados en las solicitudes de permiso de liberación al ambiente.

En ocasiones hay excedentes de semillas en algunas regiones y faltantes en otras, por lo que solicitamos atentamente el poder movilizar y comercializar la semilla entre los almacenes y regiones donde se hayan aprobado permisos para esta tecnología (RF) por la autoridad. Para esto la promovente proporcionará a la autoridad registros actualizados de inventarios de semilla en las regiones donde se cuente con permiso de liberación al ambiente.

Lugar de origen de la semilla:

Delta & Pine Land
100 Main St.
Scott, MS 38772

Delta & Pine Land
Highway 70
Aiken, TX 79221

Delta & Pine Land
15790 S. Highway 87
Eloy, AZ 85231

Delta and Pine Land Co.
610 2nd Street.
Indianola, MS 38751

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Destinos intermedios:**Agencias aduanales.**

	ADUANA	DIRECCIÓN	MUNICIPIO	LATITUD	LONGITUD (-)	LATITUD	LONGITUD (-)
1	GUADALAJARA	Aeropuerto Internacional Miguel Hidalgo. Municipio de Tlajomulco de Zuñiga. Guadalajara, Jal. CP 45659	Tlajomulco de Zuñiga	20°31'28.98"N	103°17'58.76"W	20.524717°	-103.299656°
2	TOLUCA	Boulevard Miguel Alemán Valdés esq. Agustín, Millán, Col. San Pedro Totoltepec, Toluca, Edo. De México. CP 50200	Toluca	19°20'15.90"N	99°34'16.60"W	19.337750°	-99.571278°
3	NUEVO LAREDO	Carretera Nuevo Laredo-Piedras Negras Km. 12.5, Puente Internacional de Comercio Mundial Nvo. Laredo III	Nuevo Laredo	27°35'42.67"N	99°32'41.42"W	27.595186°	-99.544839°
		Puente Internacional 2 "Juárez-Lincoln", Av. Leandro Valle y 15 de Junio, Plataforma Fiscal, Sector Centro, Nuevo Laredo, Tamps, CP 88000	Nuevo Laredo				
4	MATAMOROS	Acción Cívica y División del Norte s/n, Col. Doctores. 87340, Matamoros, Tamps. Teléfonos: (01 868) 8 11 01 01; 8 11 01 30	Matamoros	25° 52' 47" N	97° 30' 15" W	25.879722°	-97.504167°
5	NOGALES	Puerto Fronterizo Nogales III. Nuevo Corredor Fiscal Km. 12, 84000, Nogales, Son. Teléfonos: (01 631) 3 11 03 01; 3 11 03 02	Nogales	31° 19' 7" N	110° 56' 45" W	31.318611°	-110.945833°
6	MEXICALI	BLVD. Abelardo L. Rodríguez. Col. Alamitos, S/#. CP 21210. Teléfonos: (01 686) 551-52-11	Mexicali				
7	CD. JUAREZ	Sección Aduanera del Puente Internacional Zaragoza Isleta S/N Col. Waterfil, Cd. Juárez, Chih, Mexico	Cd. Juarez				Pendiente

Destino final:**Centros de distribución para la región de Tamaulipas Sur.**

Región	Centro de Distribución MONSANTO	Dirección	Estado	Latitud	Longitud
Mexicali, San Luis Río Colorado, Sonora Norte	SAM Logística	Km. 12.5 Carretera islas Agrarias S/N, Col. Abasolo, Mexicali, Baja California, CP 21600.	Baja California	32° 38' 4.91" N	115° 20' 54.04" O
Comarca Lagunera	Accel Logística	Luis F. García No. 279, Zona Industrial, Torreón, Coahuila, CP 27019.	Coahuila	25° 35' 17.62" N	103° 23' 47.13" O
Chihuahua	Distribuidora Agrícola Miller	Ave. Ferrocarril Norte #400 col. Lotes Urbanos, Cd. Delicias, Chihuahua, CP 33000.	Chihuahua	28° 12' 6.24 N	105° 28' 7.18" O
Sonora Sur	Semillas y Agroproductos Monsanto, S.A. de C.V.	Carretera Internacional Km.1616, Zona Industrial, Los Mochis, Sinaloa CP 81200.	Sinaloa	25° 47' 6.46" N	108° 53' 43.78" O
Tamaulipas	Centro de Distribución Matamoros	Av. Lauro Villar Km. 7.5 Cd. Industrial, Matamoros, Tamaulipas CP 87499.	Tamaulipas	25° 50' 29.82" N	97° 26' 43.27" O

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Almacenes de distribuidores para la región de Tamaulipas Sur.

Región	Distribuidor	Dirección	Latitud	Longitud
Chihuahua	MIRANDA ANTILLÓN ROBERTO (MILLER)	Av. Ferrocarril Norte #400, Col. Lotes Urbanos, Delicias, Chihuahua.	28.201503	-105.468721
Chihuahua	SEMILLAS PRODUCTIVAS, S.A. DE C.V. (FERTIFUM)	Domicilio conocido, Col. El Oasis, Municipio de Ojinaga.	28.92701	-104.67381
Chihuahua	ALGODONES GUTIÉRREZ, S.A. DE C.V.	Carretera Juárez – Porvenir Km. 45, Municipio de Guadalupe, Chihuahua.	31.41652	-106.1503
Comarca Lagunera	SOCIEDAD COOPERATIVA AGROPECUARIA	Cuatrociénegas S/N, Parque Industrial Lagunero, Gómez Palacios, Durango. CP 35070.	25.55623	-103.47279
Mexicali	INSUMOS AGRÍCOLAS BONATERRA, S.A.	Carretera a San Luis Río Colorado, cruce al Ejido Nuevo León, Col. Pólvora, Mexicali, Baja California.	32.5457	-115.2123
Mexicali	TECNIAGRO DEL RÍO COLORADO, S. DE R.L.	Km. 21 Carretera San Luis – Riito, Ej. Lagunitas, San Luis Río Colorado, Sonora.	32.3538	-114.9224
Sonora Sur	AGROS DE CAJEME, S.A. DE C.V.	Boulevard Norman Bourlaugh #1415 Sur. Cd. Obregón, Sonora.	27.47869	-109.93193
Tamaulipas	JEMAGO	Av. Francisco I. Madero No. 101 Col. Popular, Cd. Río Bravo, Tamaulipas. CP 88980	25.98003	-98.07366
Sonora Norte	TECNIAGRO DEL RÍO COLORADO, S. DE R.L.	Km. 21 Carretera San Luis – Riito, Ej. Lagunitas, San Luis Río Colorado, Sonora.	32.3538	-114.9224
Sinaloa	AGROPRODUCTOS ALFER, S.A. DE C.V.	Oficina y Bodega: Blvd. Macario Gaxiola No. 755-A Pte. Fraccionamiento El Parque. Los Mochis, Sin. C.P. 81200	N 25° 47' 35.2"	W 108° 58' 29.9"
		Bodega Zona Industrial: Blvd. Topolobampo S/N Zona Industrial Jiquilpan. Los Mochis, Sin. C.P. 81255	N 25° 47' 35.8"	W 108° 57' 10.6"
		Bodega Guasave: Av. Niños Héroes S/N Guasave, Sin. C.P. 81200	N 25° 34' 43.1"	W 108° 27' 44.0"
		Bodega Culiacán: Ferrocarril del Pacífico #12221 Aguaruto, Culiacán, Sin.	24.77354	-107.50769
Sinaloa	AGROSERVICIOS CASAS GRANDES, S.A. DE C.V.	Oficina y Bodega: Blas Valenzuela No. 51 Col. Centro. Guasave, Sinaloa. C.P. 81000	N 25° 34' 3.1"	W 108° 27' 50.0"
Sinaloa	NUEVA AGROINDUSTRIAS DEL NORTE, S.A. DE C.V.	Oficina y Bodega: Carretera a El Dorado Sur No. 4625, Campo El Diez. Culiacán, Sin.	N 24° 41' 54.6"	W 107° 26' 40.8"
		Bodega Los Mochis: Blvd. Adolfo López Mateos No. 2095 Nte. Col. Las Fuentes, Los	N 25° 34' 38.1"	W 108° 27' 56.2"

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Región	Distribuidor	Dirección	Latitud	Longitud
		Mochis, Sin. C.P. 81223		
		Bodega Guasave: Blvd. Central No. 1134, Col. Ejidal. Guasave, Sin C.P. 81020	N 25° 34' 38.1"	W 108° 27' 56.2"
Sinaloa	INDUSTRIAL ALGODONERA COREREPE, S.A. DE C.V.	Oficina Los Mochis: Fuente de Marte No. 375 Local 20 Los Mochis, Sin. C.P. 81223	N 25° 48' 29.8"	W 108° 58' 53.1"
		Bodega Zona Industrial: Carretera Internacional México-Nogales km 1,619.5 Los Mochis, Sin.	N 25° 47' 16.6"	W 108° 53' 43.5"
Sinaloa	DEL FUERTE COTTON, S.A. DE C.V.	Oficina: Av. Independencia No. 1600, Col. Jardines del Valle	Es sólo oficina	
		Bodega: Calle 0 y Carretera Internacional. A. Ruíz Cortínez, Guasave, Sin.	N 25° 41' 54.4"	W 108° 42' 2.8"
		Bodega: Carretera Internacional y Calle 2. A. Ruíz Cortínez, Guasave, Sin.	N 25° 42' 1.6"	W 108° 42' 3.2"

Transporte de la semilla

- a) La semilla será movilizada por vía terrestre mediante camiones y para su manejo se seguirán las medidas de bioseguridad descritas en el punto 1 (Transporte y almacenamiento de material vegetal experimental modificado por ingeniería genética) del **PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD PARA ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (OGM)**.
- b) Las semillas de algodón **RF** serán transportadas en bolsas de papel resistentes a la manipulación, selladas para prevenir cualquier derrame desde el origen hasta las bodegas y/o sitios autorizados para la liberación al ambiente.
- c) Al documentar los embarques de semilla, se harán todas las especificaciones pertinentes a la compañía transportadora para que el material sea maniobrado con cuidado y evitar rompimiento, mutilación o daño físico de las bolsas. Los envases (bolsas) estarán claramente identificados mediante etiquetas visibles. Para mayor detalle ver el **ANEXO 15. PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD GENERAL**.
- d) Los envases (bolsas) estarán claramente identificados mediante etiquetas visibles.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Etiquetado de los envases

Todos los envases individuales estarán etiquetados con la siguiente información en idioma español:

- **Nombre comercial:** Algodón Solución Faena Flex®.
- **Nombre del evento:** MON-88913-8
- **Identificador único OECD:** MON-88913-8.
- **Característica:** El algodón Solución Faena Flex® (MON-88913-8) contiene dos copias del gen *cp4 epsps* de *tumefaciens* cepa CP4 que le brindan tolerancia al herbicida glifosato.
- **Tipo de material que se envía:** Semilla
- **Contenido neto:** Dependiendo del tamaño de la semilla, cada bolsa contiene 250,000 semillas con un peso que varía de 21 a 25 kg/bolsa.
- **Nombre, dirección y teléfono del proveedor de la semilla:**

Si se utiliza un envase secundario (embalaje) éste también se etiquetará de manera visible con la información del inciso anterior y especificará la cantidad de envases individuales que contiene.

Documentación para el transporte de la semilla de algodón RF.

- a) Lista de inventario de todos los envases, embalajes y materiales que se envían especificando la fecha de envío.
- b) Guía original de transporte especificando claramente la fecha de envío.
- c) La guía de transporte y la lista de inventario debe enviarse vía fax o correo electrónico a la persona autorizada para recibir la semilla con anticipación al envío.
- d) El exportador debe mantener copias de todos los documentos que acompañan el envío, incluyendo copia del permiso de importación y del certificado fitosanitario internacional.
- e) Todos los documentos relacionados con el transporte de la semilla de algodón **RF** deben mantenerse bajo resguardo.

Recepción de los materiales transportados.

- a) Verificación de la lista de inventario.
- b) Los materiales deben mantenerse en un lugar seguro hasta que se confirme que la lista de inventario enviada coincide físicamente con los materiales recibidos.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- c) Verificar el estado de los envases y confirmar que los sellos de seguridad no fueron abiertos.
- d) En caso de que los envases hayan sido abiertos se debe comprobar que no se haya perdido el material, verificando el peso o cantidad de semilla enviada⁸.

Medidas en caso de una liberación accidental durante el transporte.

- a) En caso de derrame accidental de semilla durante el transporte, la empresa transportadora tendrá indicaciones para que se recoja la semilla derramada y mantengan el material bajo resguardo hasta que Monsanto sea notificada.
- b) Notificar a todas las personas autorizadas y con capacidad de decisión con relación al algodón **RF**.
- c) Si es posible, hacer todos los esfuerzos por recuperar el material liberado y destruirlo inmediatamente.
- d) Se identifica plenamente el sitio del accidente y se establece un programa de monitoreo por un período de un año para identificar la presencia de plántulas y proceder a su destrucción inmediata por métodos mecánico o químico (herbicidas).
- e) Se debe notificar a la autoridad competente acerca de la liberación accidental.
- f) Se deben documentar exhaustivamente todas las acciones anteriores incluyendo la hora y la fecha de cada acción.
- g) Informar a la autoridad competente sobre el plan de acción que se implementará.

Procedimiento para el almacenamiento de la semilla de algodón RF.

- a) El área destinada para almacenar la semilla de algodón **RF** debe ser, identificada en forma clara.
- b) El área destinada para el almacenamiento de la semilla debe ser limpiada exhaustivamente antes y después del periodo de almacenamiento.

⁸ Cuando se trate de un OGM de importación se debe considerar que en las inspecciones que realiza la SAGARPA en las aduanas de entrada al país generalmente se toman muestras para análisis fitosanitario.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).

REGION AGRÍCOLA DE **TAMAULIPAS SUR, PRIMAVERA – VERANO 2013.**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- c) Las entradas y salidas de material deben ser debidamente documentadas en el inventario del almacén.

De esta manera, se minimizan los riesgos de liberaciones no deseadas. En caso de ocurrir algún accidente o liberación no deseada, Monsanto se compromete a informar a la autoridad y a tomar las medidas correspondientes para mitigar dicha liberación.

B. El diseño experimental que se llevará a cabo durante la liberación en fase experimental

Los protocolos que se han utilizado durante las evaluaciones experimentales en las regiones algodoneras del norte de México son los siguientes:

1.- PROTOCOLO DE EVALUACIÓN AGRONÓMICA DE VARIEDADES DE ALGODÓN (ANEXO 21).

2.- PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE DINÁMICA (DOMINANCIA Y FLUCTUACIÓN) DE MALEZA EN PLANTACIONES DE ALGODÓN GENÉTICAMENTE MODIFICADO EN MÉXICO (ANEXO 22).