

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)**

11/27/2013

REGIÓN DEL ESTADO DE SINALOA - CICLO AGRÍCOLA PRIMAVERA - VERANO (PV) 2014.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

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	19
I.d. Hábitats de persistencia o proliferación	24
I.e. Descripción taxonómica del organismo receptor y donador.....	25
I.f. País o localidad donde el OGM fue colectado (USA)	27
I.g. Referencia documental sobre origen y diversificación del organismo receptor	27
I.h. Secuencia génica del evento de transformación (tamaño del fragmento, sitio de inserción y oligonucleótidos)	28
I.i. Descripción de las secuencias flanqueantes, número de copias insertadas, expresión de los mensajeros.....	33
SECUENCIAS FLANQUEANTES	33

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

NÚMERO DE COPIAS INSERTADAS	34
EXPRESIÓN	34
I.j. Mapa de la construcción genética, tipo de herencia de los caracteres, expresión de las proteínas y su localización.....	35
MAPA DE LA CONSTRUCCIÓN GENÉTICA	35
TIPO DE HERENCIA DE LOS CARACTERES.....	36
EXPRESIÓN DEL MATERIAL INSERTADO.....	37
LOCALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS INTRODUCIDAS	38
I.k. Descripción del método de transformación	38
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	39
I.m. Secuencia de aminoácidos y de las proteínas novedosas expresadas, tamaño del producto del gen, expresión de copias múltiples	40
I.n. Rutas metabólicas involucradas en la expresión del transgén 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	51
I.s. Número de generaciones que mostraron estabilidad en la herencia del transgén	52
I.t. Referencia bibliográfica sobre los datos presentados	54
II. IDENTIFICACIÓN DE LA ZONA DONDE SE PRETENDA LIBERAR EL OGM.....	59
II.a. Superficie total del polígono o polígonos donde se realizará la liberación	59
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.....	64
Uso.....	65

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

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	73
III.a. Estabilidad de la modificación genética del OGM.....	73
III.b. Expresión del gen introducido, incluyendo niveles de expresión de la proteína en diversos tejidos, así como los resultados que lo demuestren.....	75
III.c. Características del fenotipo del OGM	76
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.....	77
III.e. Comparación de la expresión fenotípica del OGM respecto del organismo receptor, la cual incluya, ciclo biológico y cambios en la morfología básica	77
III.f. Declaración sobre la existencia de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente que puedan derivar de la liberación del OGM.....	78
Inocuidad de la proteína introducida CP4 EPSPS.....	79
Potencial como maleza	80
Potencial de flujo génico	82
III.g. Descripción de uno o más métodos de identificación, niveles de sensibilidad y reproducibilidad	83
III.h. Existencia potencial de flujo génico del OGM a especies relacionadas.....	84
Potencial de flujo génico	84
III.i. Bibliografía reciente de referencia a los datos presentados.....	85
IV. MEDIDAS Y PROCEDIMIENTOS DE MONITOREO DE LA ACTIVIDAD Y DE BIOSEGURIDAD	87
IV.a. Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad.....	87
IV.b. Medidas y procedimientos de bioseguridad	98
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.....	108
V.a. Descripción de la zona en donde se realizó la liberación.....	108
V.b. Efectos de la liberación sobre la flora y fauna.....	108
Inocuidad de la proteína introducida CP4 EPSPS.....	109
Potencial como maleza	110

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Potencial de flujo génico	112
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)	113
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	114
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	114
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.	115
VII. NÚMERO DE AUTORIZACIÓN EXPEDIDA POR SALUD CUANDO EL OGM TENGA FINALIDADES DE SALUD PÚBLICA O BIORREMEDIACIÓN	116
VIII. LA PROPUESTA DE LA VIGENCIA PARA EL PERMISO Y LOS ELEMENTOS EMPLEADOS PARA DETERMINARLA	116
A. La cantidad de semilla a movilizar (importar), la ruta, las medidas de bioseguridad y condiciones de manejo durante el transporte.....	117
Ruta de movilización.....	117
Lugar de origen de la semilla:	117
Destinos intermedios:	118
Agencias aduanales.	118
Centros de almacenamiento regionales.....	118
B. El diseño experimental que se llevará a cabo durante la liberación en fase experimental	122

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®.....	31
Tabla 3. Niveles de proteína en tejidos de <i>RF</i> (MON-88913-8) durante 2002 [†]	35
Tabla 4. Actividad específica de la proteína CP4 EPSPS producida en <i>E. coli</i> después de la digestión en fluidos gástricos simulados.	46

Tabla 5. Prácticas agronómicas para el manejo del cultivo del algodón *RF* y convencional en Sinaloa (Hernández-Jaso *et al.*, 1996; Quiñónez-Pando *et al.*, 2000; Machain-Lillingston *et al.*, 1988). 59

Tabla 6. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono propuesto para la región del Estado de Sinaloa. 64

FIGURAS

Figura 1. Mapa del plásmido vector PV-GHGT35. 12

Figura 2. Distribución puntual de *Gossypium barbadense* L. en México. Los puntos sobre el mapa señalan los registros de colecta de *G. barbadense*. 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*. 23

Figura 3. Análisis de hibridación Southern de *RF* (MON-88913-8): análisis del número de insertos y copias..... 30

Figura 4. Representación esquemática del inserto y secuencias genómicas flanqueantes en Solución Faena Flex®. 32

Figura 5. Análisis por PCR del inserto en *RF* (MON-88913-8)..... 33

Figura 6. Secuencia deducida de aminoácidos de la proteína CP4 EPSPS presente en el algodón *RF*..... 41

Figura 7. Secuencia de aminoácidos de la proteína *AAD* utilizada en el proceso de transformación pero no integrad al genoma del algodón *RF*..... 42

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. 47

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 tricina (Tris-Glicina). Se cargó 1 ng de la proteína CP4 EPSPS producida en *E. coli* basados en la pureza y concentraciones predigestión..... 48

Figura 10. Área potencial de siembra del algodón biotecnológico *RF* en las regiones algodoneras del Estado de Sinaloa durante el ciclo de siembra PV-2014. 63

Figura 11. Principales vías de comunicación de la zona de liberación (región del Estado de Sinaloa)..... 73

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

CUADROS

Cuadro 1. Origen e historia de selección de la variedad Coker 312. 13

Cuadro 2. Cantidad de OGM (RF) a liberar. 59

Cuadro 3. Despepites autorizados para la región del Estado de Sinaloa..... 107

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

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 DEL ESTADO DE SINALOA, DURANTE EL CICLO AGRÍCOLA PRIMAVERA - VERANO 2014.

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.

Representante legal

Dr. Jesús Eduardo Pérez Pico.

Ing. José Javier Gándara Espinosa.

M. en C. Luis Adrián Castillo León.

Biol. Giovanni 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;

Prolongación Paseo de la Reforma 1015 Torre A Piso 21

Desarrollo Santa Fe

01376 México, D.F.

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. Giovanni 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 DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

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. Giovani 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 15 años, del algodón Bollgard®, Bollgard®/Solución Faena® y Solución Faena® y en la experiencia acumulada con las nuevas tecnologías Bollgard®II, **Solución Faena Flex®** y Bollgard®II/Solución Faena Flex® introducidas desde 2004 (10 años) en las regiones algodoneras 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 del **Estado de Sinaloa** 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 DEL ESTADO DE SINALOA (**PRIMAVERA-VERANO 2014**).

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 **RF**, organismos no blanco, toxicidad, manejo de resistencia de malezas y beneficios ambientales y económicos en las regiones algodoneras del norte de México. Estos estudios sustentan la seguridad ambiental y los beneficios económicos de dicho algodón para la producción de esta especie en México (**Ver carpeta de estudios de algodón en Sinaloa**).

Estas evaluaciones incluyen las áreas agrícolas de Sinaloa, donde se han operado dos ciclos en Etapa Experimental durante el Otoño-Invierno (OI) 2011 y 2012 y se está operando el primer ciclo en Programa Piloto durante el OI-2013 con esta tecnología.

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 27 de noviembre de 2013.

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 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 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 DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

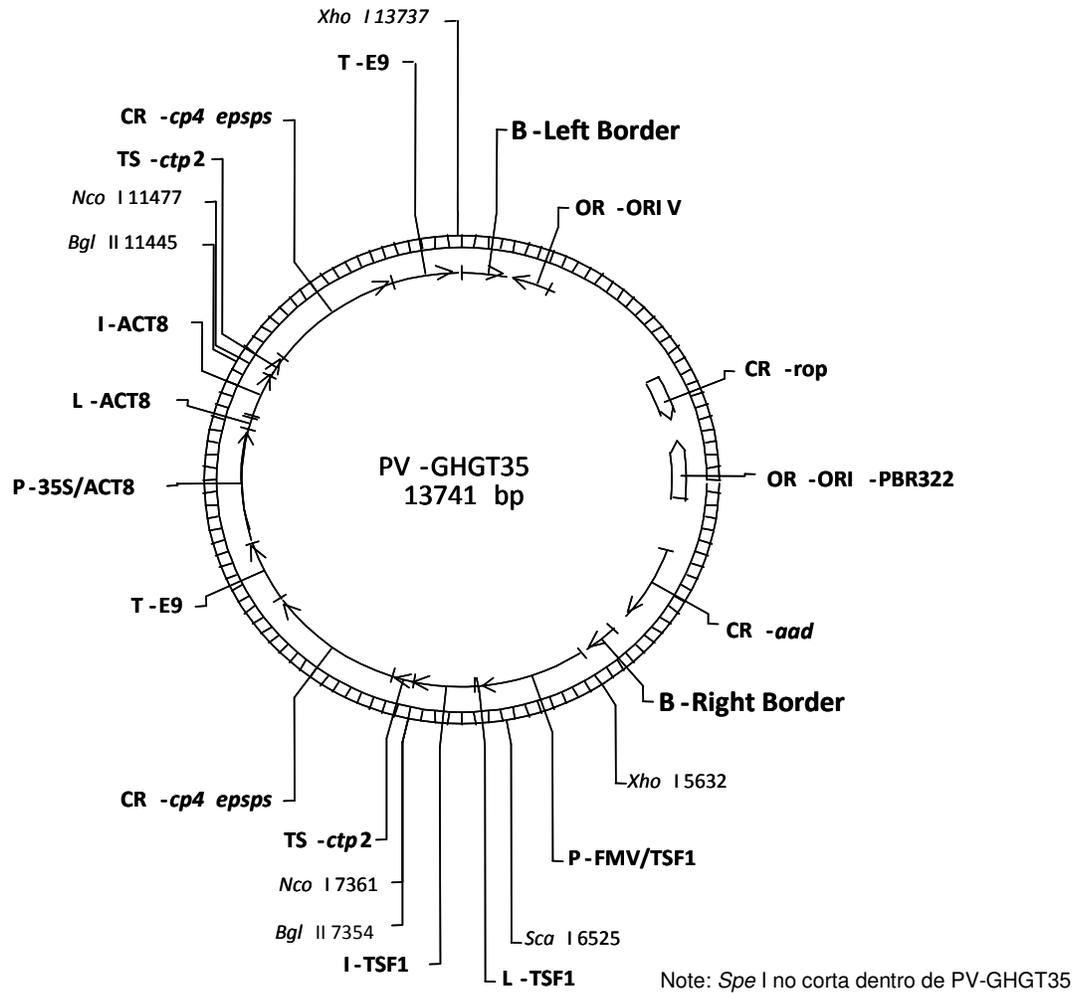


Figura 1. Mapa del plásmido vector PV-GHGT35.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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

ETAPA	AÑO	ACTIVIDAD
1	1948	Cruza: Cocker 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 Cnyon 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 DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

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 la región del **Estado de Sinaloa** en el sistema de la Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (REMIB)¹. Los resultados de la búsqueda indican once reportes para la especie diploide *Gossypium aridum* (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> Brandegees	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

Colectas en el Estado de Sinaloa.

Gossypium aridum. Colección: Herbario de la Universidad de Texas – Austin, EUA (LL, TEX); TEX 00213720; Fecha de colecta: 7-Febrero-2000; Colectores: T. R. van Devender, G. P. Nabhan y T. Fleming; Localidad: Colina Este, Ejido Potrero de las Anchas, Este de la carretera México 15, entre Guamúchil y Culiacán; Sitio: Longitud -107° 58' 43.0" – Latitud 25° 7' 4.0" – Tipo de preparación: Herborizado.

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 DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Gossypium aridum. Colección: Herbario de la Universidad de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 28-abril-1944; Colectores: H. S. Gentry; Localidad: Cerrito Caimanero; Sitio: Longitud -107° 1' 41.0" – Latitud 24° 51' 54.0" – Hábitat: Mesa basáltica.

Gossypium aridum. Colección: Herbario de la Universidad de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 8-October-1944; Colectores: H. S. Gentry; Localidad: Cerro Llano redondo, al Oeste de Caimanero; Sitio: Longitud -107° 1' 41.0" – Latitud 24° 51' 54.0" – Hábitat: Pendiente cerro, basáltica.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 6-Febrero-1940; Colectores: H. S. Gentry; Localidad: Cofradía, Sinaloa; Hábitat: en meseta con pocos árboles.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 1963; Localidad: Sinaloa, Sinaloa; Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 12-October-1966; Colectores: P. A. Fryxell; Localidad: Cerca de Pericos, Carretera cerca del km 1486, 40 minutos al Norte de Culiacán, Sinaloa; Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 26-Abril-1962; Colectores: R. J. Barr y C. T. Mason Jr.; Localidad: Carretera México 15, cerca de Culiacán, Sinaloa; Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 16-Marzo-1983; Colectores: G. D. Starr; Localidad: 9 minutos fuera de la carretera a Cosalá, Sinaloa; Sitio: Longitud -106° 58' 30.0" – Latitud 24° 9' 99.0" – Hábitat: Vegetación baja sinaloense; Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; ARIZ 362020; Fecha de colecta: 24-Febrero-2001; Colectores: J. A. Gutiérrez, J. A. Hernández V. y R. Vega A.; Localidad: Sindicatura de Baila, ± 2.5 km de la carr. Mex. 15, por la carretera que conduce al cerro de microondas Culagua, a 600 m al Oeste del cerro de microondas Culagua, Mpio. Culiacán, Sinaloa; Sitio: Longitud -106° 59' 48.0" – Latitud 25° 0' 42.0" – Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; ARIZ 361389; Fecha de colecta: 28-Febrero-2001; Colectores: J. A. Gutiérrez, J. A. Hernández V. y R. Vega A.; Localidad: Caimanero, km 57 de la autopista Culiacán-Los Mochis, a ± 10 km al Oeste del poblado Caimanero, Mpio. Mocorito, Sinaloa; Sitio: Longitud -107° 49' 50.0" – Latitud 25° 1' 0.0" – Preparación: Herborizado.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; ARIZ 362010; Fecha de colecta: 17-Marzo-2001; Colectores: J. A. Gutiérrez, J. A. Hernández V. y R. Vega A.; Localidad: Sindicatura de Baila, a ± 1 km al Este del poblado de Baila, Mpio. Culiacán, Sinaloa; Sitio: Longitud -106° 57' 33.0" – Latitud 24° 10' 45.0" – Preparación: Herborizado.

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>
- 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>

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- 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
- 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_utildos_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>

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

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).

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

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.

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 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.**

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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**).

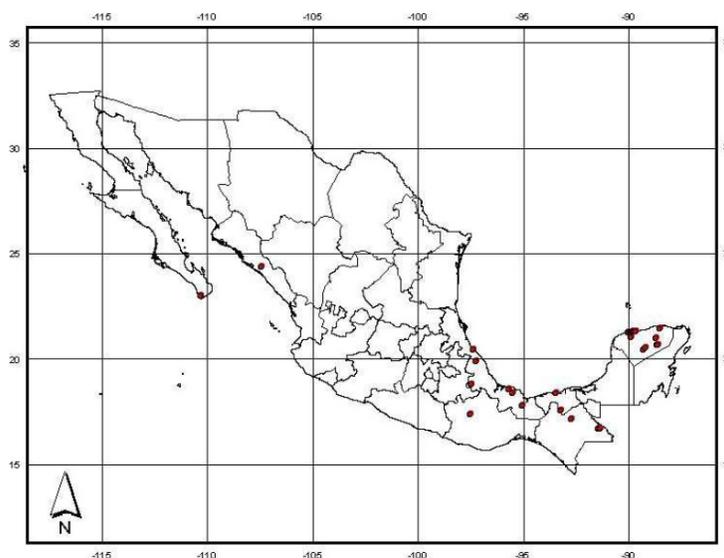


Figura 2. Distribución puntual de *Gossypium barbadense* L. en México. Los puntos sobre el mapa señalan los registros de colecta de *G. barbadense*. Fuente: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM). Proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad. Algodón *Gossypium barbadense*.

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.

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.

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 DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

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>).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Reino: **Plantae** - VegetalSubreino: [Tracheobionta](#) – Plantas vascularesSuperdivisión: [Spermatophyta](#) – Plantas con semillasDivisión: [Magnoliophyta](#) – Plantas con floresClase: [Magnoliopsida](#) – DicotiledóneasSubclase: [Dilleniidae](#)Orden: [Malvales](#)Familia: [Malvaceae](#)Género: [Gossypium L.](#) – algodón cultivadoEspecie: [Gossypium_hirsutum L.](#) – algodón cultivadoVariedad: [Gossypium_hirsutum L. var. hirsutum](#) – algodón cultivado

Variedad comercial: Coker 312.

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 delineación 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

I.f. País o localidad donde el OGM fue colectado (USA)**Tecnología Solución Faena Flex®****Semilla**

Monsanto Company

Delta & Pine Land Cotton Seed Co.

700 Chesterfield Village Parkway North

Scott, Mississippi, 38772, USA.

St. Louis Missouri, 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).

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,

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 DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- *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**, 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).

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**.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

El ADN 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**.

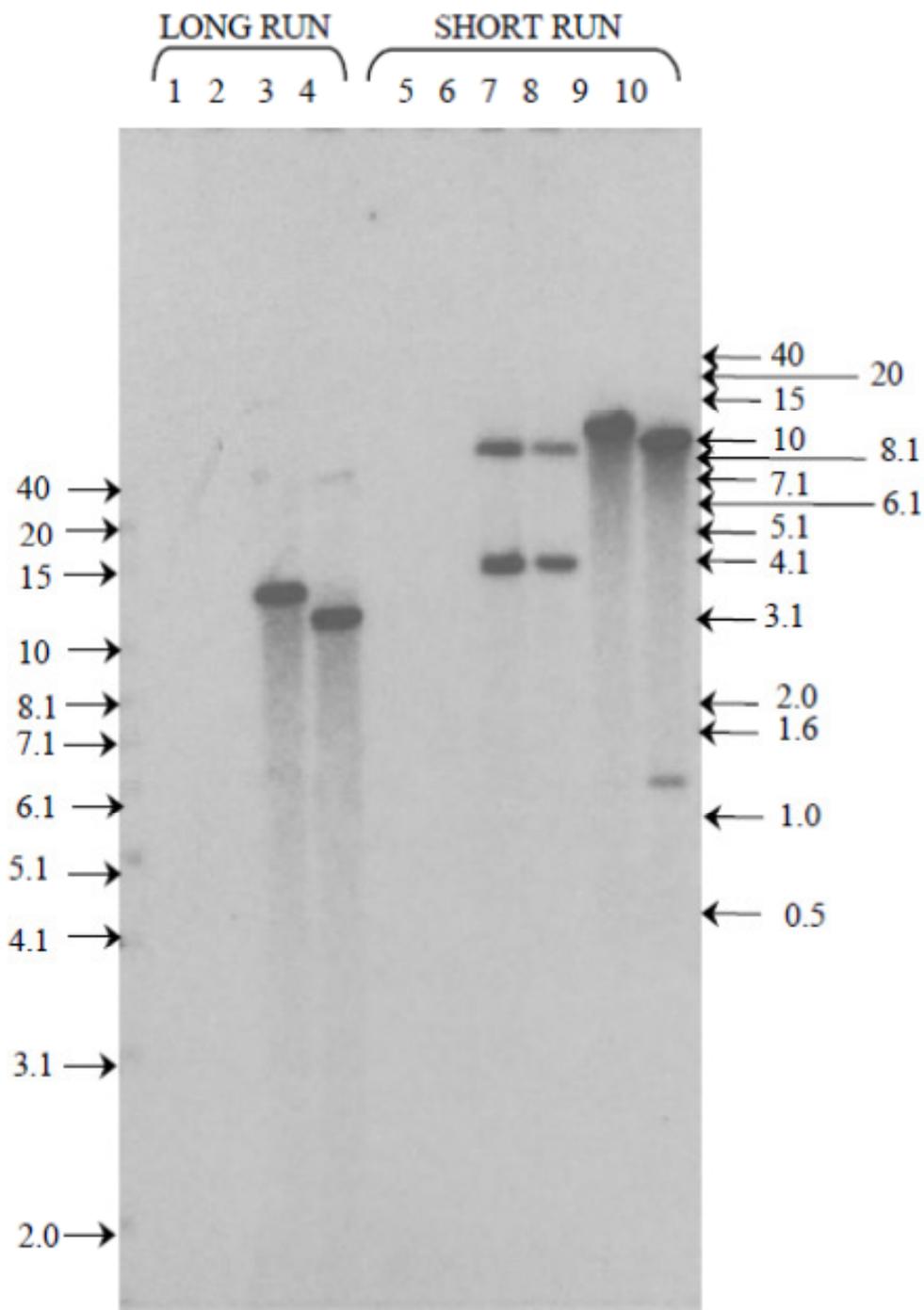


Figura 3. Análisis de hibridación Southern de *RF* (MON-88913-8): análisis del número de insertos y copias.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

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®.

Elemento genético	Función
P¹- FMV/TSF1	Promotor quimérico constituido por la región promotora del gen TSF1 de <i>Arabidopsis thaliana</i> y secuencias potenciadoras del promotor 35 S del virus del mosaico de la <i>Scrophularia</i> (FMV)
L ² -TSF1	Secuencia líder (exón 1) del gen TSF1 de <i>Arabidopsis thaliana</i> que codifica al factor de elongación EF-1alfa.
I ³ -TSF1	Intrón del gen TSF1 de <i>Arabidopsis thaliana</i> que codifica al factor de elongación EF-1alfa.
TS⁴- ctp2	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 ⁵ -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 ACT8 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 ACT8 de <i>Arabidopsis thaliana</i> .
I-ACT8	Intrón y secuencia del exón flanqueante del gen ACT8 de <i>Arabidopsis thaliana</i> .
TS-ctp2	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 - cp4 epsps	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.

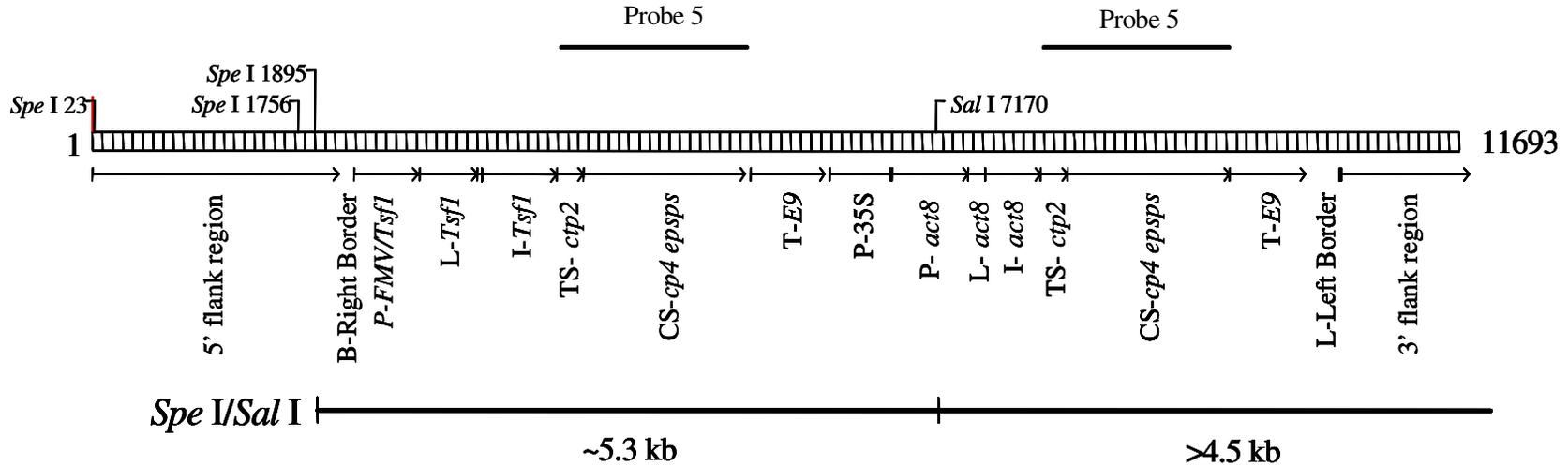


Figura 4. Representación esquemática del inserto y secuencias genómicas flanqueantes en Solución Faena Flex®.

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.

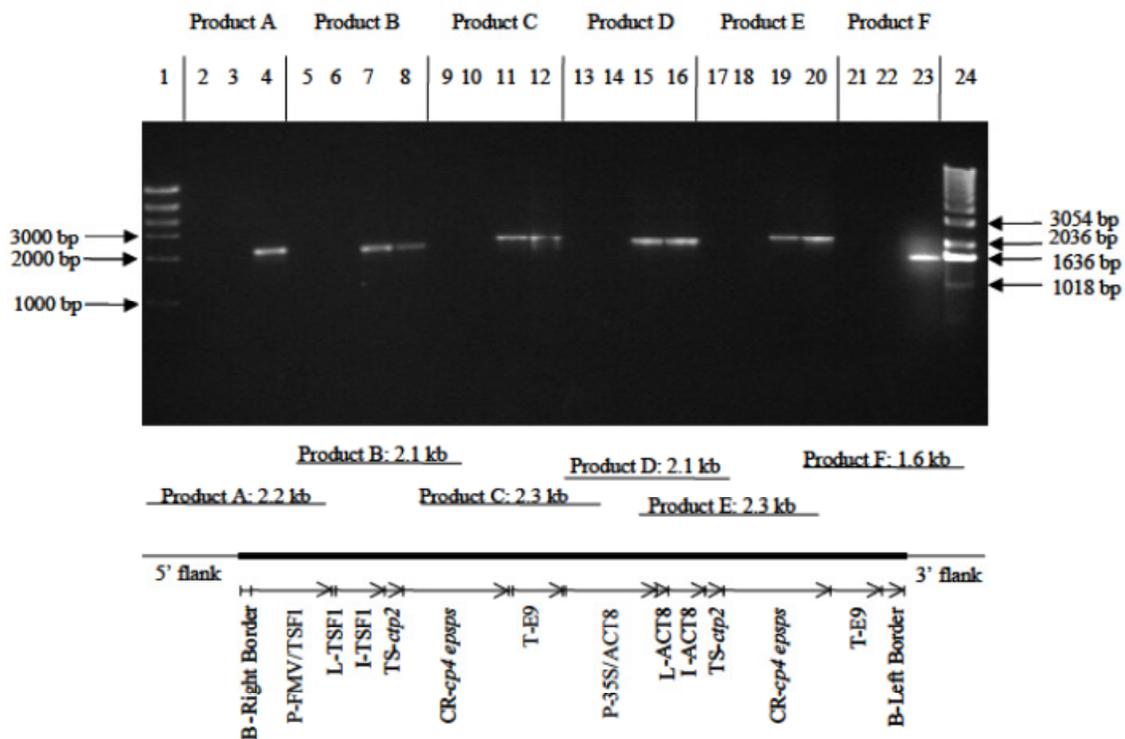


Figura 5. Análisis por PCR del inserto en *RF* (MON-88913-8).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

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, 1,400, 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 algodonerías 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 tiempos 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 DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

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)	Rango ³ (µg/g ps)	LOQ/LOD (µg/g pbh)
Tejido foliar joven	170 (64)	64 – 260	970 (460)	270 – 1,700	0.23 / 0.069
OSL1 ⁴	270 (99)	77 – 410	1,400 (540)	480 – 2,600	0.23 / 0.069
OSL2	170 (44)	63 – 260	690 (210)	290 – 1,000	0.23 / 0.069
OSL3	160 (61)	66 – 260	630 (230)	290 – 1,100	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 sitios³ 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, 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.

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 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 RNAm 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. 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, 1,400, 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 DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 RNAm 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 algodón **RF** (evento MON-88913-8) es la variedad de algodón 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-

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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:
 - 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 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.*,

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

1	MLHGASSRPA	TARKSSGLSG	TVRIPGDKSI	SHRSFMFGGL	ASGETRITGL
51	LEGEDVINTG	KAMQAMGARI	RKEGDTWIID	GVGNGLLAP	EAPLDFGNAA
101	TGCRITMGLV	GVYDFDSTFI	GDASLTKRPM	GRVLNPLREM	GVQVKSEDGD
151	RLPVTLRGPK	TPTPITYRVP	MASAQVKS AV	LLAGLNTPGI	TTVIEPIMTR
201	DHTEKMLQGF	GANLTVETDA	DGVRTIRLEG	RGKLTGQVID	VPGDPSSTAF
251	PLVAALLVPG	SDVTILNVLM	NPTRTGLILT	LQEMGADIEV	INPRLAGGED
301	VADLRVRSST	LKGVTVPEDR	APSMIDEYPI	LAVAAAF AEG	ATVMNGLEEL
351	RVKESDRLSA	VANGLKLNGV	DCDEGETSLV	VRGRPDGKGL	GNASGA AVAT
401	HLDHRIAMSF	LVMGLVSENP	VTVDDATMIA	TSPPEFMDLM	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-aminoglicósido 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-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 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	TQLSEVVGVI	ERHLEPTLLA	VHLYGSAVDG	GLKPHSDIDL
51	LVTVTVRLDE	TTRRALINDL	LETSASPGES	EILRAVEVTI	VVHDDIIPWR
101	YPAKRELQFG	EWQRNDILAG	IFEPATIDID	LAILLTKARE	HSVALVGPAA
151	EELFDPVPEQ	DLFEALNETL	TLWNSPPDWA	GDERNVVLT	SRIWYSAVTC
201	KIAPKDVAAD	WAMERLPAQY	QPVILEARQA	YLGQEDRLAS	RADQLEEFVH
251	YVRGEITKVV	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 transgén 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 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 y 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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 sustrato 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 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 se sintetizan 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 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**).

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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

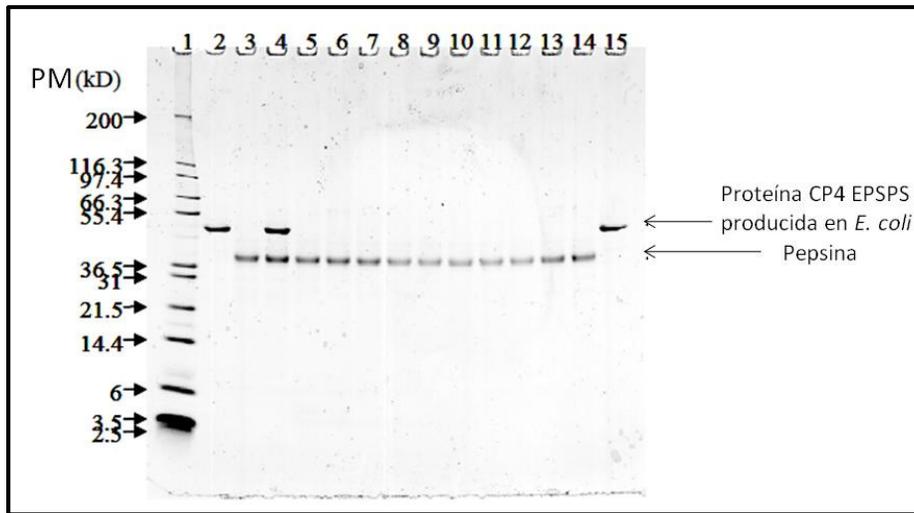


Figura 8. Análisis de SDS-PAGE mostrando la digestión de la CP4 EPSPS purificada de *E. coli* en fluidos gástricos simulados. Las proteínas fueron separadas por SDS-PAGE utilizando un gradiente de poliacrilamida 10 – 20% en un gel con buffer tricina (Tris-Glicina). Las proteínas se detectaron con un 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

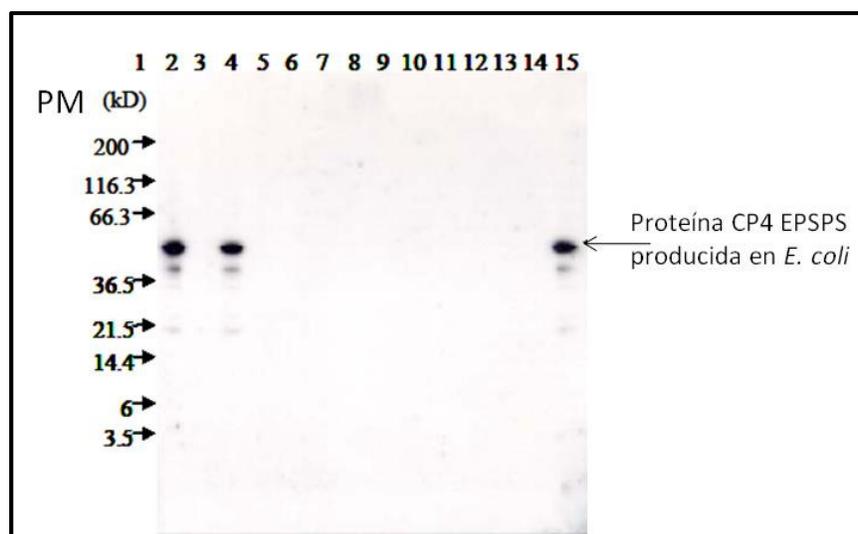


Figura 9. Análisis de Western blot mostrando la digestión de la CP4 EPSPS purificada de *E. coli* en fluidos gástricos simulados. Las proteínas fueron separadas por SDS-PAGE utilizando un gradiente de poliacrilamida 10 – 20% en un gel con buffer tricina (Tris-Glicina). Se cargó 1 ng de la proteína CP4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

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**.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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®.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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).

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).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

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 espectinomicina 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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

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. Padgette, 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.

Barry, G.F., Kishore, G.M., Padgette, 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- 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.
- 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- 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.
- 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- 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-enopyruvylshikimate-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.
- 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 desarrollado por investigadores del INIFAP en la región (**Tabla 5**).

Para el ciclo **PV-2014** se tienen contemplado sembrar 11,500 hectáreas de algodón **RF** en la región del **Estado de Sinaloa** a partir del mes de junio de 2014 (**Cuadro 2**). Para este ciclo agrícola, se solicita el mismo polígono que se solicitó para los ciclos OI-2011, 201 en Etapa Experimental y 2013 en Programa Piloto (**Figura 10**). Cabe mencionar que este polígono sólo aplica para este evento y para esta región.

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)*
ESTADO DE SINALOA	PV - 2014	11,500	MAYO DE 2014	JUNIO-JULIO DE 2014	195,500

* En la región de Sinaloa se siembra a una densidad de 17 Kg/ha.

Tabla 5. Prácticas agronómicas para el manejo del cultivo del algodón RF y convencional en Sinaloa (Hernández-Jaso *et al.*, 1996; Quiñónez-Pando *et al.*, 2000; Machain-Lillingston *et al.*, 1988).

Prácticas agronómicas	RF	Convencional
Preparación del terreno		
Subsuelo	Inmediatamente después de la cosecha anterior	Inmediatamente después de la cosecha anterior
Barbecho	Inmediatamente después del subsuelo	Inmediatamente después del subsuelo
Rastro	Inmediatamente después del barbecho	Inmediatamente después del barbecho
Nivelación	Después del barbecho	Después del barbecho
Época de siembra	1 de septiembre al 31 de diciembre	1 de septiembre al 31 de diciembre
Método de siembra	Siembra en húmedo o "a tierra venida"	Siembra en húmedo o "a tierra venida"
Densidad de siembra	17 Kg/ha	17 Kg/ha
Riegos	Cinco riegos de auxilio en las etapas fenológicas de: inicio de floración, máxima producción de botones florales, máxima	Cinco riegos de auxilio en las etapas fenológicas de: inicio de floración, máxima producción de botones florales, máxima

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Prácticas agronómicas	RF	Convencional
	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	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

Consideraciones sobre los Humedales de Importancia Internacional (Convención RAMSAR, Ramsar, Irán 1971) y la siembra de Organismos Genéticamente modificados (OGM).

En opinión de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), la siembra de organismos genéticamente modificados (OGMs) no se podrá realizar en o cerca de las zonas de traslape de los Sitios de Humedales RAMSAR en base al Contenido de la Convención RAMSAR, de la cuál nuestro país es signatario y por tanto se debe cumplir a efecto de no contravenir el artículo 133 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.

De lo anterior se desprende que en opinión de CONANP y de la Dirección General de Impacto y Riesgo Ambiental (DGIRA), la Convención RAMSAR prohíbe la liberación de OGMs en sitios RAMSAR. Al respecto, la promovente se permite manifestar que **no existe ninguna disposición en la Convención RAMSAR que contenga dicha prohibición**, o que haga alusión a ella. Más aún, en los documentos generados por esta Convención, llamados

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Conferencia de las Partes, tampoco se desprende la existencia de dicha limitante, por lo que el argumento de prohibir la siembra de OGMs en sitios RAMSAR carece de fundamentación legal, técnica y/o científica.

De acuerdo con la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados (LBOGM) las zonas restringidas para la liberación de OGMs son:

“ARTÍCULO 3.- Para los efectos de esta Ley, se entiende por:

...

XXXVI. Zonas restringidas: Los centros de origen, los centros de diversidad genética y las áreas naturales protegidas, dentro de los cuales se restrinja la realización de actividades con organismos genéticamente modificados, en los términos de esta Ley...”

De igual manera la LBOGM en su artículo 89, establece:

“ARTÍCULO 89.- En las áreas naturales protegidas creadas de conformidad con lo dispuesto en la materia, sólo se permitirán actividades con OGMs para fines de biorremediación, en los casos en que aparezcan plagas o contaminantes que pudieran poner en peligro la existencia de especies animales, vegetales o acuícolas, y los OGMs hayan sido creados para evitar o combatir dicha situación, siempre que se cuente con los elementos científicos y técnicos necesarios que soporten el beneficio ambiental que se pretende obtener, y dichas actividades sean permitidas por la SEMARNAT en los términos de esta Ley...”

Lo anterior quiere decir que **en Áreas Naturales Protegidas**, sí y solo si éstas han sido declaradas como tales **mediante decreto expedido por el titular del Ejecutivo Federal, está prohibida la liberación de OGMs, pero no en sitios RAMSAR**, conforme a los artículos 57, 58 y 60 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LEGEEPA).

Los sitios Ramsar ubicados en “Ensenada Pabellones”, “Laguna Playa Colorada-Santa María-La Reforma”, “Sistema Lagunar Agiabampo-Bacorehuis-Río Fuerte Antiguo”, “Lagunas de Santa María-Topolobampo-Ohuira” y “San Ignacio-Navachiste-Macapule”, donde se ha prohibido la siembra de algodón genéticamente modificado de acuerdo a lo establecido en el Dictamen Vinculante de DGIRA, parte de permisos anteriores, se traslapan con zonas agrícolas activas ubicadas en y alimentadas por los distritos de riego 010 Culiacán-Humaya, 063 Guasave, 074 Mocorito, 075 Río Fuerte, 076 Valle del Carrizo y Fuerte-Mayo, 108 Elota-Piactla y 109 Río San Lorenzo. Estas zonas agrícolas (**ANEXO 7. Sitios Ramsar Sinaloa y Zonas agrícolas**) se han sembrado con diversos cultivos, principalmente maíz y hortalizas, desde hace muchos años por lo que son zonas impactadas por las actividades agrícolas.

En relación a lo anterior, puntualizamos que la siembra de organismos genéticamente modificados, en particular algodón Bollgard®II/Solución Faena Flex® y Solución Faena Flex®, no incluye actividades que supongan un impacto adicional a las actividades agrícolas que se realizan actualmente en la zona con cultivos convencionales. Esto porque se ha demostrado

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

durante 18 años en todas las regiones aldoneras de México, incluyendo Sinaloa donde se sembró algodón biotecnológico exitosamente durante los ciclos OI-2011 y 2012, que este cultivo modificado es equivalente agronómica y fenotípicamente al algodón convencional. Además, no hay diferencias en cuanto a sus interacciones ecológicas, ya que se presentan las mismas malezas, plagas objetivo y no objetivo, y artrópodos asociados al cultivo que en el algodón convencional, no encontrándose diferencias en cuanto a los índices de riqueza de especies (Margalef) y de diversidad de especies (Shannon) entre el algodón biotecnológico y el convencional (**ANEXO 8. Evaluación Experimental algodón B2RF y RF Sinaloa OI-2011**).

Adicionalmente, la siembra de algodón Bollgard®II/Solución Faena Flex®, tecnología parte del paquete de algodón Solución Faena Flex®, promueve la disminución del uso de insecticidas. En Sinaloa, durante el ciclo OI-2012, se evitó en promedio una aplicación de insecticidas por hectárea, consistente en 2 litros de cipermetrina (200 g ia/L). Si se extrapola a las 1,837 hectáreas sembradas ese ciclo, el uso de la tecnología Bollgard®II/Solución Faena Flex® podría contribuir a evitar la aplicación de aproximadamente 3,674 litros del insecticida cipermetrina, con las ventajas que esto supone al ambiente y a la salud de los habitantes rurales (**ANEXO 9. Reporte Costo-Beneficio Ambiental algodón B2RF Sinaloa OI-2012**).

Por otro lado, el algodón Solución Faena Flex® promueve la disminución del uso de herbicidas debido al amplio espectro de control de su ingrediente activo (glifosato) en el control de malezas de hoja ancha y angosta. Al utilizar una sola química muy amigables con el ambiente (categoría toxicológica IV en los registros de CICOPAFEST), se minimiza el uso de otros herbicidas solos o en combinación que pueden causar un mayor impacto al ambiente por sus diferentes grados de toxicidad (I-IV) (**ANEXO 10. Reporte Costo-Beneficio Ambiental algodón RF Sinaloa OI-2012**).

Por lo tanto, como se desprende de los razonamientos anteriores, ***no hay fundamento legal para determinar que se prohíbe la siembra de organismos genéticamente modificados en los sitios RAMSAR y/o zonas de amortiguamiento designadas por CONANP, que se traslapen zonas de liberación de organismos genéticamente modificados aprobadas por la autoridad correspondiente a la promovente en los Permisos de Liberación al Ambiente en Etapa Experimental, Piloto o Comercial.***

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

En la **Figura 10** se presenta el mapa que establece los límites geográficos del polígono propuesto para la liberación de la tecnología **RF** en la región del **Estado de Sinaloa** durante el **PV-2014**, incluyendo los municipios que abarca y las Áreas Naturales Protegidas cercanas. Además, se incluye una tabla con la descripción de la ubicación en coordenadas geográficas y UTM del polígono (**Tabla 6**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

El polígono incluye la totalidad del área de los municipios de **Ahome, El Fuerte, Guasave, Sinaloa, Salvador Alvarado, Mocorito, Angostura, Navolato, Culiacán y Elota**. El mapeo por municipio se realizó con la finalidad de tener un mejor control de la distribución de los predios de los agricultores cooperantes que sembrarán algodón **RF** durante el **PV-2014** y realizar mejores prácticas de seguimiento de productos y procesos asociados a la tecnología **RF** (ETS, Excellence Through Stewardship, por sus siglas en inglés).

Las líneas que demarcan el perímetro de este polígono (**Figura 10**) no coinciden a la perfección con los límites municipales. Por lo tanto, debe entenderse que los límites del polígono solicitado (y por ende de las áreas donde se establecerán los cultivos de algodón **RF**) estarán delimitados por los límites de los municipios solicitados y las fronteras estatales con los estados de Sonora, Chihuahua y Durango. De esta manera, ningún área de los municipios de Choix, Badiraguato, Cosalá y San Ignacio en Sinaloa está incluida en el polígono, aunque las líneas que trazan dicho polígono pasen sus fronteras municipales. Lo mismo para áreas en los estados vecinos.

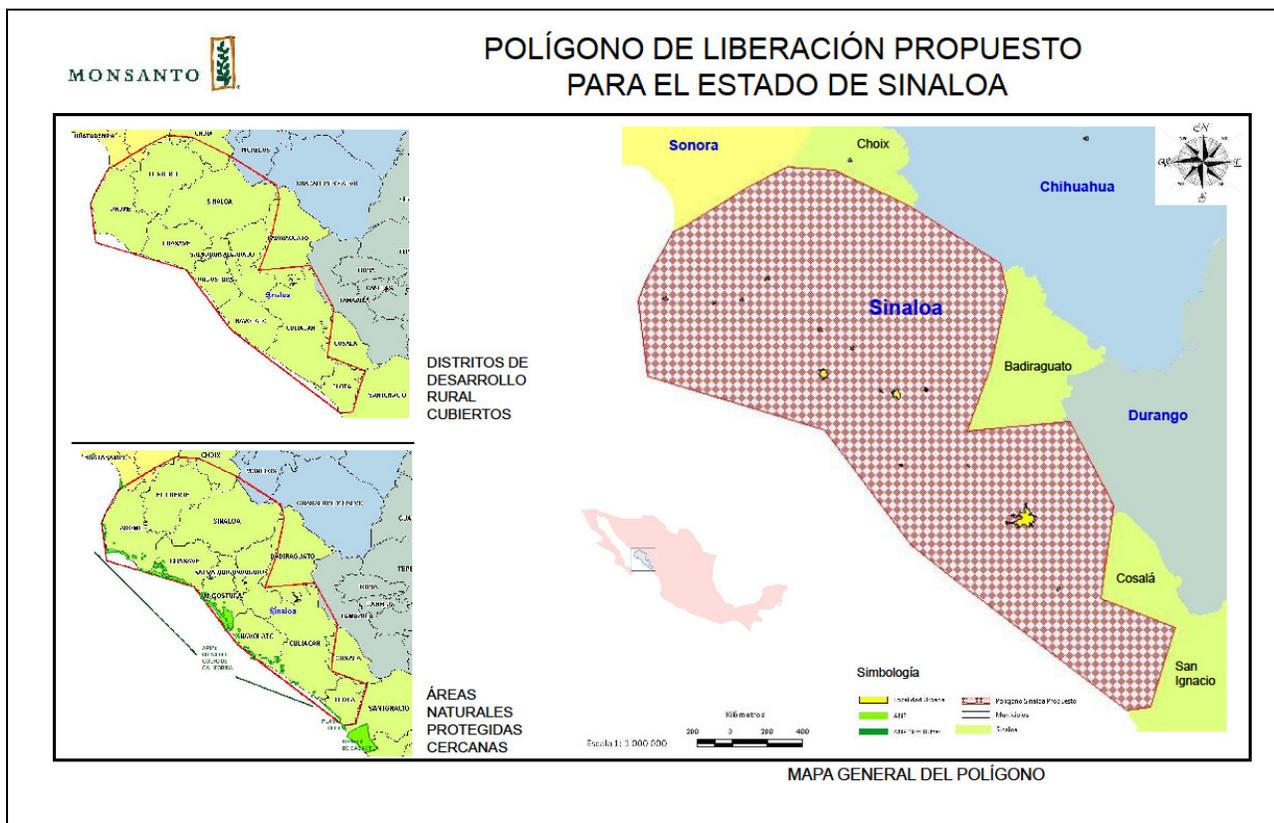


Figura 10. Área potencial de siembra del algodón biotecnológico **RF** en las regiones algodoneras del Estado de Sinaloa durante el ciclo de siembra PV-2014.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Tabla 6. Coordenadas geográficas y en UTM del polígono propuesto para la región del Estado de Sinaloa.

Vértice	LL84		UTM84-12N		UTM84-13N	
	Latitud	Longitud	Latitud	Longitud	Longitud	Latitud
1	-107.5281	26.1508	847147.5557	2897022.5475	247268.9067	2894841.6143
2	-107.4924	26.0032	851159.4758	2880753.6022	250524.9615	2878417.1029
3	-107.5771	25.5974	843844.6222	2835536.2889	241162.3588	2833611.4390
4	-107.7048	25.2577	831937.9986	2797559.3461	227566.7612	2796228.6710
5	-107.1634	25.3098	886357.2088	2804790.1070	282208.5336	2801012.9005
6	-106.9243	24.8628	911954.4466	2755920.0985	305575.5240	2751125.8994
7	-106.9939	24.3623	906533.0307	2700208.7141	297740.1367	2695791.8184
8	-106.6017	24.2120	946916.5158	2684742.0766	337346.5144	2678630.2404
9	-106.6533	24.0481	942224.2399	2666399.6347	331884.0457	2660543.7772
10	-106.7312	23.7859	935169.3959	2637069.9707	323605.8976	2631598.6181
11	-106.8590	23.7711	922181.5862	2635045.7943	310568.3628	2630127.7954
12	-107.8034	24.4912	823990.7756	2712365.4944	215877.2603	2711499.3101
13	-107.9993	24.6502	803739.3674	2729537.5538	196396.0869	2729534.5930
14	-108.4592	25.2630	755892.1216	2796496.0199	151540.0071	2798566.5201
15	-109.3995	25.5494	660797.6799	2826750.6450	57771.3907	2833113.9622
16	-109.4491	25.9516	655284.7113	2871246.4618	54282.9690	2877909.7262
17	-109.4083	26.0576	659233.3379	2883035.7156	58778.7336	2889529.6920
18	-109.2615	26.3217	673528.8499	2912483.9615	74452.0490	2918342.0452
19	-109.2109	26.3418	678547.6996	2914779.3216	79581.5303	2920405.3805
20	-108.8746	26.5503	711731.5418	2938381.0139	113883.3448	2942466.6142
21	-108.6600	26.6628	732888.3582	2951225.6740	135644.1107	2954317.7101
22	-108.4055	26.6447	758271.3141	2949708.5053	160947.4995	2951607.1488
23	-108.0129	26.4582	797857.7704	2929884.3002	199574.0650	2929944.2675

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

El polígono propuesto para la siembra de algodón **RF** en el Estado de Sinaloa, se sustenta en la siguiente información:

- No incluye Áreas Naturales Protegidas establecidas oficialmente por la Comisión Nacional de Áreas Protegidas (CONANP) en la región agrícola del Estado de Sinaloa.
- 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- En el polígono propuesto, la infraestructura disponible permite la siembra de algodón en la región agrícola del Estado de Sinaloa.

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**).

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> Brandegees	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

En adición a la literatura consultada, se realizó una búsqueda sobre la presencia de especies del género *Gossypium* en la región del **Estado de Sinaloa** en el sistema de la Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (REMIB)⁵. Los resultados de la búsqueda indican once reportes para la especie diploide *Gossypium aridum* (http://www.conabio.gob.mx/remib/cgi-bin/remib_distribucion.cgi).

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 DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Gossypium aridum. Colección: Herbario de la Universidad de Texas – Austin, EUA (LL, TEX); TEX 00213720; Fecha de colecta: 7-Febrero-2000; Colectores: T. R. van Devender, G. P. Nabhan y T. Fleming; Localidad: Colina Este, Ejido Potrero de las Anches, Este de la carretera México 15, entre Guamúchil y Culiacán; Sitio: Longitud -107° 58' 43.0" – Latitud 25° 7' 4.0" – Tipo de preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Herbario de la Universidad de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 28-abril-1944; Colectores: H. S. Gentry; Localidad: Cerrito Caimanero; Sitio: Longitud -107° 1' 41.0" – Latitud 24° 51' 54.0" – Hábitat: Mesa basáltica.

Gossypium aridum. Colección: Herbario de la Universidad de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 8-October-1944; Colectores: H. S. Gentry; Localidad: Cerro Llano redondo, al Oeste de Caimanero; Sitio: Longitud -107° 1' 41.0" – Latitud 24° 51' 54.0" – Hábitat: Pendiente cerro, basáltica.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 6-Febrero-1940; Colectores: H. S. Gentry; Localidad: Cofradía, Sinaloa; Hábitat: en meseta con pocos árboles.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 1963; Localidad: Sinaloa, Sinaloa; Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 12-October-1966; Colectores: P. A. Fryxell; Localidad: Cerca de Pericos, Carretera cerca del km 1486, 40 minutos al Norte de Culiacán, Sinaloa; Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 26-Abril-1962; Colectores: R. J. Barr y C. T. Mason Jr.; Localidad: Carretera México 15, cerca de Culiacán, Sinaloa; Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; Fecha de colecta: 16-Marzo-1983; Colectores: G. D. Starr; Localidad: 9 minutos fuera de la carretera a Cosalá, Sinaloa; Sitio: Longitud -106° 58' 30.0" – Latitud 24° 9' 99.0" – Hábitat: Vegetación baja sinaloense; Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; ARIZ 362020; Fecha de colecta: 24-Febrero-2001; Colectores: J. A. Gutiérrez, J. A. Hernández V. y R. Vega A.; Localidad: Sindicatura de Baila, ± 2.5 km de la carretera México 15, por la carretera que conduce al cerro de microondas Culagua, a 600 m al Oeste del cerro de microondas Culagua, Mpio. Culiacán, Sinaloa; Sitio: Longitud -106° 59' 48.0" – Latitud 25° 0' 42.0" – Preparación: Herborizado.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; ARIZ 361389; Fecha de colecta: 28-Febrero-2001; Colectores: J. A. Gutiérrez, J. A. Hernández V. y R. Vega A.; Localidad: Caimanero, km 57 de la autopista Culiacán-Los Mochis, a ± 10 km al Oeste del poblado Caimanero, Mpio. Mocorito, Sinaloa; Sitio: Longitud -107° 49' 50.0" – Latitud 25° 1' 0.0" – Preparación: Herborizado.

Gossypium aridum. Colección: Repatriación de datos del Herbario de Arizona, EUA; ARIZ 362010; Fecha de colecta: 17-Marzo-2001; Colectores: J. A. Gutiérrez, J. A. Hernández V. y R. Vega A.; Localidad: Sindicatura de Baila, a ± 1 km al Este del poblado de Baila, Mpio. Culiacán, Sinaloa; Sitio: Longitud -106° 57' 33.0" – Latitud 24° 10' 45.0" – Preparación: Herborizado.

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>
- 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>

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- 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
- 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_utildos_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>

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- 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 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**

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 DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 pocas ocurrencias de la especie silvestre *Gossypium aridum****, 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 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

II.c.2. Descripción geográficaInformación en <http://laip.sinaloa.gob.mx/Portal>

El Estado de Sinaloa está localizado al noroeste de México, cuenta con 18 municipios con un área total de 59 mil kilómetros cuadrados que representa el 3% del área total del país. Colinda al oeste con el Océano Pacífico y el Mar de Cortés con 650 kilómetros de costa. Durante 8 meses del año la temperatura promedio es de 23°C y los 4 meses restantes es de 29°C. La temperatura promedio anual es de 25°C y el promedio de humedad es de 68%.

Localización Geográfica y Extensión territorial

Municipio	Coordenadas Extremas				Extensión (Kilómetros Cuadrados)
	Longitud Oeste		Latitud Norte		
	Del Meridiano	Al Meridiano	Del Paralelo	Al Paralelo	
E S T A D O	105°24'00"	109°27'00"	22°31'00"	26°56'00"	58 092.00
Ahome	108°43'47"	109°24'20"	25°27'46"	26°26'08"	4 342.89
Angostura	107°47'03"	108°15'19"	25°00'43"	23°30'00"	1 447.63
Badiraguato	106°51'40"	107°40'30"	25°13'54"	26°17'56"	5 864.74
Concordia	105°29'37"	106°06'12"	23°08'30"	23°50'45"	1 524.34
Cosalá	106°17'35"	106°59'36"	24°10'02"	24°52'52"	2 665.12
Culiacán	106°56'50"	107°50'15"	24°01'10"	25°14'56"	4 758.90
Choix	108°04'25"	108°50'40"	26°14'37"	27°02'31"	4 512.40
Elota	106°27'00"	107°02'10"	23°49'07"	24°24'12"	1 518.15
Escuinapa	105°17'17"	105°49'18"	22°99'18"	23°00'00"	1 633.22
El Fuerte	108°16'47"	109°04'42"	25°53'29"	26°38'47"	3 843.02
Guasave	108°05'26"	108°47'24"	25°19'04"	25°56'36"	3 464.41
Mazatán	105°46'23"	106°30'51"	23°07'17"	25°52'27"	3 068.48
Mocorito	107°23'28"	107°58'15"	24°58'41"	24°54'22"	2 566.00
Navolato	107°14'00"	108°04'50"	24°25'45"	24°59'30"	2 285.00
Rosario	105°11'16"	106°03'02"	22°47'35"	25°30'00"	2 723.28
Salvador Alvarado	107°44'00"	108°12'11"	25°11'03"	25°43'47"	1 037.00
San Ignacio	105°44'45"	106°44'01"	23°31'20"	24°26'19"	4 650.97
Sinaloa	107°27'56"	180°40'22"	25°39'54"	26°25'49"	6 186.45

Climatología

En el Estado de Sinaloa, por los rasgos que presentan el clima, éste se divide en 3 regiones: Zona Septentrional, comprendida al Norte del Río Fuerte y las localidades de Esperanza y Topolobampo; Zona Central: comprendida entre el Río Fuerte y el Río Mocorito; y Zona Meridional, que se extiende desde el Río Mocorito hasta los límites del Estado de Nayarit. El clima es cálido en la faja costera; templado cálido en los valles y en las faldas de los declives; templado-frío en las montañas de poca elevación y frío en las más altas. Observaciones correspondientes al período 1981-1986 determinan una temperatura media anual para Sinaloa de 25°C. La precipitación anual es aproximadamente 830 mm.

Geomorfología

La geomorfología del Estado de Sinaloa es producto de los desprendimientos del eje montañoso que asciende desde la extremidad austral en Escuinapa y El Rosario, y que penetra al Estado en los límites con Durango y Chihuahua recibiendo los nombres de Sierra de Topia, Tepehuajes y Tarahumara.

Las formaciones de un considerable número de serranías desligadas del macizo montañoso que afloran en su topografía, crean los extensos valles y la planicie costera del Estado. Una de las regiones más montañosas de la entidad se localiza en el municipio de Badiraguato al que pertenecen las Sierras de Surutato, Baragua, Cuervo de Ciervo, Santiago de los Caballeros, Capirato y otras.

Geología

La geología del Estado de Sinaloa incluye en sus diversas formaciones una área de mesetas de composición riolítica, que presentan ondulaciones e inclinaciones hacia el occidente del mismo. La llanura costera, se caracteriza por abanicos aluviales, antiguos valles fluvio-deltaicos, pequeñas colinas de rocas-deltaicas, estuarios, complejos lagunarios y depósitos cálcicos marinos. Parte de la geología del Estado son las rocas ignimbritas y derrames riolíticos, piroclásticos, andesíticos, basálticos y rocas volcánicas.

Edafología

Los suelos predominantes son del tipo Chernozem o Negros y Chesnut o Castaños. Este tipo de suelos ocupan el 90.0% de la superficie del Estado y se aprecian principalmente en el noroeste, este, sur y hacia el oriente de la parte norte - central del Estado.

Hidrología

Los escurrimientos superficiales provenientes de las Sierras de Chihuahua y Durango y la distribución de los volúmenes de agua de los ríos a lo largo del Estado, definen la hidrografía de Sinaloa. Once corrientes principales aportan un escurrimiento medio anual de 15 mil 169 millones de metros cúbicos, en una área de cuencas de 92 mil 13 kilómetros cuadrados. Los nombres de las corrientes superficiales son Río Elota, Baluarte, Cañas, Mocorito, Piaxtla, Sinaloa, Humaya, Tamazula, Fuerte, San Lorenzo y Presidio.

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



Figura 11. Principales vías de comunicación de la zona de liberación (región del Estado de Sinaloa).

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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

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 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, 1,400, 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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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, 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*.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 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.

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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

No se espera que la característica de tolerancia a glifosato otorgue al algodón ventajas adaptativas en hábitats naturales, en condiciones naturales ó 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 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.

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).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.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 **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 desnaturizada 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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 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 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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 (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 la etapa experimental de las diversas regiones algodoneras de México. A continuación se enlistan 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 11.**

Monsanto Company. Recommended procedure for PEG precipitation of genomic plant DNA. Monsanto Biotechnology Regulatory Sciences. **ANEXO 12.**

Monsanto Company. A recommended procedure for Real-Time Quantitative TaqMan® PCR for Roundup Ready® Flex cotton, MON 88913. Monsanto Biotechnology Regulatory Sciences. **ANEXO 13.**

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.

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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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**).

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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

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.
- 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.
- 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 **Documento de Mejores Prácticas** que incluye las Medidas de Bioseguridad para ensayos regulados de campo (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**), cuyo objetivo principal es el de proveer los lineamientos de las mejores prácticas y recomendaciones generales para el transporte, almacenamiento, 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 experimentales, se aplicarán las Medidas de Bioseguridad descritas en el **ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**.

Para el plan comercial de algodón **RF**, con la participación de agricultores se seguirán los lineamientos descritos en el **Documento Medidas de Bioseguridad en Programa Comercial Algodón (ANEXO 15. DMP-STW-LAN-003)**. La siembra de algodón **RF** se realizará únicamente en las zonas autorizadas en el Permiso de Liberación al Ambiente y no se sembrará algodón **RF** en las zonas pertenecientes a ninguna Área Natural Protegida.

Medidas de bioseguridad:

Las siembras de campo de ensayos regulados en etapa experimental, ofrecen a equipos regulatorios, tanto del sector público como privado, la oportunidad de ejecutar siembras de OGM para evaluar procedimientos, mecanismos y mejores prácticas para el cultivo, manejo y producción que puedan ser implementados para el manejo y producción comercial. También permiten el desarrollo de procedimientos y prácticas que aseguren el seguimiento y buen manejo requerido en las actividades de manejo de semilla, cultivo, logísticas, bioseguridad y utilización de la producción que asegure el cumplimiento de la normatividad del país para cultivos OGM (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Selección del lugar del ensayo

La ubicación y selección de los sitios para la siembra de los ensayos regulados en etapa experimental, se hacen con varios meses de anticipación para asegurar que los sitios de liberación o predios son representativos de la región de interés y cumplen con los criterios de selección para ensayos agronómicos. Se debe de seguir el procedimiento **DMP-STW-LAN-008 “IDENTIFICACIÓN DE PREDIOS PARA ENSAYOS 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 DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Una vez seleccionados los sitios de liberación o predios autorizados por las autoridades regulatorias se debe de llenar el **RE-ST-RG-20 “LISTA DE ACTIVIDADES CRÍTICAS DE CUMPLIMIENTO PARA ENSAYOS REGULADOS – CHECKLIST DE CUMPLIMIENTO”** la primera sección de pre-siembra para cada campo seleccionado (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Demarcación del lugar y mapeo del ensayo

Desde la identificación y durante el proceso de selección y aprobación, los sitios de siembra para fase experimental son demarcados en los límites del predio con coordenadas GPS y con marcadores físicos temporales en el terreno (por ejemplo, estacas de madera, postes de metal, PVC o fibra de vidrio). Para el registro de las cuatro esquinas del ensayo se utilizan las coordenadas del sistema de posicionamiento global (GPS), así como la identificación de los pedios inmediatos aledaños, registrando la información en el Registro **RE-ST-RG-06 “IDENTIFICACIÓN DE PREDIOS PARA ENSAYOS GM”**.

Antes de iniciar el proceso de siembra se debe de llenar el registro **RE-ST-RG-07 LISTA DE ACTIVIDADES CRÍTICAS DE CUMPLIMIENTO PARA ENSAYOS REGULADOS - CHECKLIST DE CUMPLIMIENTO”** donde se confirman las operaciones de pre-siembra y se le da continuidad con información durante la siembra y cierra con actividades de post-siembra (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Transporte de la semilla.

Las semillas a utilizar para el establecimiento de los ensayos regulados en campo deberán ser transportadas en contenedores seguros y adecuadas. Cualquier formato de contenedor y/o empaque utilizado para el transporte y almacenamiento de semilla y/o grano debe prevenir liberaciones accidentales y/o no intencionales. La semilla será importada, manejada, preparada para siembra y sembrada por personal de Monsanto con el soporte del agricultor cooperante.

Los embarques de semilla deberán de estar claramente identificados con la **RE-ST-RG-15 ETIQUETA PARA TRANSPORTE DE MATERIAL GM**. Importante no dejar ninguna información en blanco. Y cumplir con la forma de empaque de acuerdo a lo establecido en el procedimiento **DMP-STW-LAN-006 “ALMACENAMIENTO, PREPARACIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE SEMILLA GM”** y cumplir en forma con el llenado, documentación y resguardo de la información descrita en dicho procedimiento. Es responsabilidad del personal que reciba el envío de semilla confirmar fehacientemente que el envío/cargamento ha llegado intacto y que no ha habido pérdida alguna. Posteriormente, quien recibe el envío debe informarle al despachador que el material se recibió en condiciones satisfactorias las condiciones de envío y recepción (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Almacenamiento y control de semilla para ensayos regulados

Monsanto es responsable del resguardo, custodia, manejo del inventario y disposición de toda semilla GM, debiendo llevar registros individuales por evento y por lote de esta semilla para su mejor control, cumpliendo con lo estipulado en el **DMP-STW-LAN-006 “ALMACENAMIENTO, PREPARACIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE SEMILLA”** y cumplir en forma con el llenado, documentación y resguardo de la información descrita en dicho procedimiento en el registro de entradas y salidas de producto **RE-ST-RG-14 “ENTRADAS Y SALIDAS DE ALMACÉN DE MATERIAL GM”**. Estos registros son documentación de soporte del programa de seguimiento, verificación y cumplimiento regulatorio y Stewardship.

Monsanto cuenta con un centro de acopio y preparación especializado para el almacenamiento y manejo de la semilla, el área de almacenamiento debe ser un espacio adecuado para tal fin, debe cumplir como mínimo: control en las puertas de acceso y ventanas, que puedan ser cerradas y aseguradas, tener un espacio adecuado para cada contenedor de semilla y que impida la mezcla de diferentes eventos, el contenedor o estiba debe tener una etiqueta que contenga mínimo la siguiente información: Producto Genéticamente Modificado, Tipo de evento transgénico, Híbrido o Variedad y Lote/identificación única, el área de almacenaje será etiquetada mencionando que contiene material vegetal experimental genéticamente modificado, y que el acceso es restringido, se debe documentar el acceso de todas la personas al sitio de almacenamiento de material GM y el propósito de dicha visita en el registro correspondiente **RE-ST-RG-11 “CONTROL DE VISITAS A ALMACÉN CON SEMILLA GM”**.

El área de almacenamiento debe ser inspeccionada por personal de Stewardship o designados para verificar el cumplimiento y buenas prácticas de almacenamiento.

Toda la semilla remanente que no se haya utilizado en las siembras del ensayo, debe de permanecer resguardada, almacenada e inventariada de acuerdo al **DMP-STW-LAN-006 “ALMACENAMIENTO, PREPARACIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE SEMILLA GM”**, en caso de que se decida de-vitalizar la semilla sobrante de dichos materiales, se deberá notificar a SAGARPA para que supervise y verifique la operación (incineración, molienda, etc.). Usar el **RE-ST-RG-04 “REGISTRO DE MATERIAL PARA DESVITALIZAR”**. Una copia del acta de la de-vitalización debe de ser anexada al record del inventario de cada evento y lote, documentar en el **RE-ST-RG-14 “ENTRADAS Y SALIDAS DE ALMACÉN DE MATERIAL GM”** para comprobar su disposición final y cerrar el inventario correspondiente.

Si dentro del almacén de semilla regulada hubiera una liberación accidental de semilla OGM, el incidente debe mantenerse bajo control y seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-013 “MANEJO DE DERRAME Y LIBERACIÓN NO-INTENCIONAL DE MATERIAL GM”** para recuperar la semilla y restaurar el control de la situación, llenar el registro **RE-ST-RG-03 “REPORTE DE INCIDENTES STEWARDSHIP”** e informar dentro de las primeras 24 horas del

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

incidente al líder de Stewardship, todo el material recuperado deberá ser almacenado y controlado en un contenedor independiente y esperar instrucciones para su de-vitalización, junto con las autoridades regulatorias.

El responsable de Stewardship debe notificar a las autoridades correspondientes dentro de las 24 horas siguientes a que se tenga conocimiento de la misma e informar por escrito físicamente en un periodo de 3 días hábiles (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Siembra del ensayo regulado

La siembra del ensayo en etapa experimental será ejecutada por personal de Monsanto y con soporte del agricultor cooperante siguiendo el protocolo del ensayo y siguiendo las prácticas culturales de la región (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Limpieza del equipo de campo y pre-siembra del ensayo

Todos los equipos a utilizar en el proceso de siembra deben de ser verificados antes de ingresarlos al sitio donde se sembrará el ensayo, para evitar que contengan semilla o cualquier material utilizado previamente con el equipo, se debe de llenar el registro **RE-ST-RG-09 “VERIFICACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS PARA ENSAYOS CONFINADOS”**, todos los equipos utilizados dentro de los ensayos confinados deben de ser limpiados antes de entrar al ensayo y antes de salir del ensayo regulado dentro del área confinada, esta operación debe de quedar registrada en el formato anterior.

Los métodos de limpieza pueden incluir limpieza manual, con aire comprimido, aspiradoras de aire o con agua a alta presión. Sin importar el método de limpieza, todo el material colectado durante la limpieza deberá ser depositado dentro del área autorizada.

Si antes o durante el proceso de siembra del ensayo regulado hubiera una liberación accidental de semillas OGM, el incidente debe mantenerse bajo control y seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-013 “MANEJO DE DERRAME Y LIBERACIÓN NO-INTENCIONAL DE MATERIAL GM”** para recuperar la semilla y restaurar el control de la situación, llenar el registro **RE-ST-RG-03 “REPORTE DE INCIDENTES STEWARDSHIP”** e informar dentro de las primeras 24 horas del incidente al líder de Stewardship, todo el material recuperado deberá ser almacenado y controlado en un contenedor independiente y esperar instrucciones para su de-vitalización, junto con las autoridades regulatorias.

El responsable de Stewardship debe notificar a las autoridades correspondientes dentro de las 24 horas siguientes a que se tenga conocimiento de la misma e informar por escrito físicamente en un periodo de 3 días hábiles (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (**PRIMAVERA-VERANO 2014**).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Actividades de post-siembra

Verificar el marcajes del predio, incluyendo el área del ensayo mas el área del bordo (si se incluye) con marcadores físicos temporales en el terreno (por ejemplo, estacas de madera, postes de metal, PVC o fibra de vidrio) de manera que el área a monitoreo esté señalizada.

Todas las actividades relacionadas con el mantenimiento y/o implementación de las actividades requeridas para el manejo convencional del cultivo y por los protocolos propuestos, serán conducidas por el agricultor cooperante, técnico de campo, TD, Regulatorio y/o los Investigadores Cooperantes.

Todos los equipos mecánicos que participen en estas actividades deberán ser limpiados antes y después de cada operación y documentarlo en formato **RE-ST-RG-09 “VERIFICACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS PARA ENSAYOS CONFINADOS”**. Además, se programará vigilancia típica de la región para evitar la extracción de producto del ensayo (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Cosecha y disposición final de materiales

La cosecha de siembras de ensayos confinados serán ejecutadas utilizando el mismo procedimiento que la cosecha de materiales convencionales de la región, habiendo algunas excepciones en el protocolo de ejecución del ensayo de acuerdo a la etapa de experimentación que se esté realizando, pudiendo ser que el material cosechado se de-vitalice o se ingrese a la cadena agroalimentaria por medio de recibas, procesadoras, granjas pecuarias, etc. Este capítulo indica las prácticas de bioseguridad a ser implementadas para asegurar una cosecha segura de las siembras de OGM (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Finalización anticipada de las siembras y disposición final de material vegetal

En algunas circunstancias se puede dar por terminada una siembra antes de la fecha prevista para su cosecha, por ejemplo, debido a condiciones ambientales desfavorables (como granizo, sequías, huracanes, etc.) o debido a consideraciones relacionadas con el cumplimiento de las condiciones establecidas en el permiso. Las siembras que deben darse por finalizadas en forma temprana serán cortadas, trituradas e incorporadas al suelo mediante prácticas culturales. Se debe de documentar esta operación de destrucción de acuerdo al **DMP-STW-LAN-024 FINALIZACIÓN ANTICIPADA DE ENSAYOS OGM**. Deberá de iniciarse el monitoreo de voluntarias de acuerdo al protocolo **DMP-STW-LAN-009 “MONITOREO Y DESTRUCCIÓN DE PLANTAS VOLUNTARIAS DE SEMILLA GM”** (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Monitoreo de la cosecha

El responsable de Monsanto o asignado a la localidad a cosechar deberá de monitorear las actividades de preparación y ejecución de la cosecha de acuerdo al protocolo o seguir el siguiente procedimiento:

- a) El técnico, agricultor y/o especialista de campo revisará la humedad del predio para determinar un periodo tentativo de cosecha, en base a la humedad del grano o fibra.
- b) Que el material cosechado no se mezcle inadvertidamente con otro.
- c) Que cada muestra y/o contenedor con semilla o fibra OGM sea etiquetado con **RE-ST-RG-16 ETIQUETA IDENTIFICADOR ÚNICO PARA GM** para no perder la trazabilidad del producto.
- d) Documentación de estimaciones de producción, del transportista, cadena de custodia y verificación de las condiciones del contenedor a utilizar para la movilización del grano o fibra para prevenir posibles liberaciones accidentales y/o no intencionales, utilizar el formato **RE-ST-RG-02 “REGISTRO DE TRANSPORTE DE MATERIAL GM DE CAMPO”**.
- e) La limpieza de los equipos durante el proceso de cosecha deben ser realizadas antes y después de utilizarlos y documentarse en el formato **RE-ST-RG-09 “VERIFICACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS PARA ENSAYOS CONFINADOS”**.
- f) En caso de que el proceso de cosecha, desgrane, de-vitalización tenga que ser interrumpido (causas no otra localidad, asegurar la documentación de la vigilancia, resguardo y custodia de los controlables, climáticas, seguridad, etc.) y/o haya necesidad de transportar material para procesamiento a materiales regulados utilizando el registro **RE-ST-RG-02 “REGISTRO DE TRANSPORTE DE MATERIAL GM DE CAMPO”**.
- g) Verificar que todo el material vegetal remanente debe ser triturado e incorporado al suelo después de la cosecha de modo tal que resulte inviable y se procederá al inicio del programa de monitoreo de plantas voluntarias por el siguiente ciclo agrícola (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Transporte de materiales cosechados desde el sitio de siembra a las recibas, despepites y/o procesadores (en caso de que lo indique el protocolo)

Para el transporte del grano o fibra cosechada del ensayo debe ser utilizado un transporte adecuado para el tipo de producto, y pueda ser tapado con lona para prevenir liberaciones accidentales y/o no intencionales. Cada envío debe contener el registro **RE-ST-RG-02 “REGISTRO DE TRANSPORTE DE MATERIAL GM DE CAMPO”** para identificar cada envío y no perder la trazabilidad en la movilización del producto, los documentos deben ser movilizadas con cada camión.

El técnico de campo se asegurará que:

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- a) La limpieza de los equipos para transporte debe ser realizada antes y después de utilizarlos y documentarse en el formato **RE-ST-RG-09 “VERIFICACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS PARA ENSAYOS CONFINADOS”**.
- b) El transporte es tipo jaula, en buenas condiciones y que no existe posibilidad de pérdida de grano durante el transporte. En caso de que exista posibilidad de fuga de grano o fibra se deberán hacer las correcciones necesarias o evitar cargar ese camión.
- c) El transportista entiende los requerimientos de medidas de bioseguridad y su responsabilidad para la transportación del producto OGM a la localidad de la reciba, despepite o usuario pecuario.
- d) El llenado del transporte se implementará dentro del área autorizada para que cualquier derrame de grano o fibra quede dentro del predio y sea incorporado junto con el rastrojo del cultivo.
- e) Para evitar derrames en el camino es recomendable dejar sin llenar unos 30 cm de la parte superior de la caja y colocar la lona para cubrir la carga.
- f) Al término del llenado de cada camión, el técnico o el encargado de la cosecha llenará el **RE-ST-GR-02 “REGISTRO DE TRANSPORTE DE MATERIAL OGM DE CAMPO”**, asegurándose de que todos los datos sean correctos en la remisión y que incluyan las leyendas que es Material Genéticamente Modificado.
- g) Colocará en las rejillas y puertas del camión los seguros (candados, sellos, etc.).

Se entregará al transportista la remisión correspondiente y éste a su vez la entregará al destino para su verificación.

Una vez que el producto ha sido transportado y descargado, se utilizará el **RE-ST-RG-09 “VERIFICACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS PARA CAMPOS OGM”** para documentar que el transporte ha quedado completamente limpio de grano o fibra que transportó.

El destinatario del grano o fibra verificará las cantidades entregadas por el transportista y firmará de recibido. Así mismo verificará que el camión tenga todos los seguros en las rejillas y puertas. En caso de notar algo diferente deberá de notificar a Stewardship/regulatorio de Monsanto. Una vez las verificaciones de la transportación se han llevado a cabo satisfactoriamente, se procederá a abrir los seguros y hacer la descarga en los contenedores reservados para estos materiales.

Stewardship Monsanto implementará un programa de monitoreo de la operación final del proceso de la reciba, despepite o granja pecuaria para documentar y verificar el uso final del producto OGM.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Si antes o durante el proceso de siembra del ensayo regulado hubiera una liberación accidental de semillas OGM , el incidente debe mantenerse bajo control y seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-013 “MANEJO DE DERRAME Y LIBERACIÓN NO-INTENCIONAL DE MATERIAL GM”** para recuperar la semilla y restaurar el control de la situación, llenar el registro **RE-ST-RG-03 “REPORTE DE INCIDENTES STEWARDSHIP”** e informar dentro de las primeras 24 horas del incidente al líder de Stewardship, todo el material recuperado deberá ser almacenado y controlado en un contenedor independiente y esperar instrucciones para su de- vitalización, junto con las autoridades regulatorias.

El responsable de Stewardship debe notificar a las autoridades correspondientes dentro de las 24 horas siguientes a que se tenga conocimiento de la misma e informar por escrito físicamente en un periodo de 3 días hábiles (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Manejo del sitio de siembra después de la cosecha

Estas medidas están diseñadas para garantizar que cualquier planta voluntaria que crezca después de la cosecha será eliminada y así, prevenir su establecimiento.

Después de todas las actividades relacionadas con la cosecha, el terreno que ocupó el ensayo debe ser arado y/o las actividades requeridas para la incorporación de rastrojo, grano y/o plantas voluntarias. El proceso de limpieza de maquinaria y/o equipo deberá realizarse dentro del área confinada y ser documentado en el formato de limpieza **RE-ST-RG-09 “VERIFICACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS PARA ENSAYOS CONFINADOS”** (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Monitoreo post-cosecha del sitio de siembra y alrededores

Al finalizar el ciclo del ensayo, se implementará el programa de monitoreo de plantas voluntarias en el área marcada previamente del ensayo, para asegurar que cualquier planta voluntaria sea eliminada antes de que llegue a floración o a producción de semilla.

El responsable del ensayo o quien él designe, debe seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-009 “MONITOREO Y DESTRUCCIÓN DE PLANTAS VOLUNTARIAS DE SEMILLA GM”**, para asegurar el correcto seguimiento a la implementación y documentación del programa de monitoreo y destrucción de plantas voluntarias.

El agricultor cooperante en conjunto con Monsanto o quien él designe, debe seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-009 “MONITOREO Y DESTRUCCIÓN DE PLANTAS VOLUNTARIAS DE SEMILLA GM”**. Para asegurar el correcto seguimiento a la implementación y documentación del programa de monitoreo y destrucción de plantas voluntarias.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

El área de monitoreo de plantas voluntarias incluye el área del ensayo mas el área del bordo, que debe de estar delimitada con marcadores físicos temporales en el terreno (por ejemplo, estacas de madera, postes de metal, PVC o fibra de vidrio) de manera que el área a monitoreo este señalizada. El área a monitorear debe de ampliarse para incluir área donde la semilla pudo haber sido dispersa fuera del área de la siembra durante las operaciones de cosecha e incluyendo áreas donde la maquinaria para la destrucción de esquilmos (desvaradora, rastra, arado, etc.) haya pasado. Todas las plantas voluntarias en el área monitoreada deben de ser destruidas antes de la floración. Los métodos para eliminar plantas voluntarias incluyen rastra y arado, eliminación manual usando tijeras de podar de mango largo, palas y/o desenterrándolas para evitar rebrote, esta actividad debe quedar registrada en **RE-ST-RG-01 “REPORTE DE MONITOREO DE PLANTAS VOLUNTARIAS (ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001)**.

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.
- **Monitoreo de Plantas Voluntarias.** Después de la cosecha de predios sembrados con algodón GM, se inspección 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 de resistencia en insectos.** Un programa efectivo de manejo de resistencia en insectos es parte vital del uso responsable de productos de biotecnología para el control de insectos. Monsanto está comprometido a la implementación de un programa efectivo de manejo de resistencia en insectos para todos sus productos con tecnología *Bt* en todos los países donde se comercializan, incluyendo la promoción del conocimiento de estos programas con los agricultores. Monsanto trabaja para el desarrollo y la implementación de programas de manejo de resistencia en insectos de una forma balanceada entre el conocimiento científico disponible, académicos y la implementación práctica, con la aceptación de los agricultores y la implementación del programa como componentes críticos. Desde las primeras introducciones en fase experimental de las tecnologías en México, MONSANTO consideró como alta prioridad establecer un programa de monitoreo y manejo de la resistencia a estas endotoxinas y desde 1997 ha apoyado investigación para el monitoreo de resistencia a la toxinas Cry, en los productos utilizados en México. Dicho programa de manejo de la resistencia se ha dividido en varias etapas: establecimiento de líneas base de susceptibilidad en especies

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

objetivo, colectas de poblaciones en las diferentes regiones donde se siembran los productos para el control de insectos basados en dichas proteínas Cry y el monitoreo de la respuesta biológica a la toxina en bioensayos en laboratorio. En el programa participan los agricultores usuarios de las tecnologías Bollgard[®], Bollgard[®]/Solución Faena[®] y Bollgard[®]II/Solución Faena Flex[®], la compañía MONSANTO e instituciones de investigación agrícola como es la Universidad Autónoma del Estado de México (Dr. Sotero Aguilar Medel).

- **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**[®] 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- 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 finalizar el ciclo del ensayo se implementará el programa de monitoreo de plantas voluntarias, en el área marcada previamente del ensayo, para asegurar que cualquier planta voluntaria sea eliminada antes de que llegue a floración o a producción de semilla. El responsable del ensayo o quien él designe, debe seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-009 “MONITOREO Y DESTRUCCIÓN DE PLANTAS VOLUNTARIAS DE SEMILLA GM”**, para asegurar el correcto seguimiento a la implementación y documentación del programa de monitoreo y destrucción de plantas voluntarias. El agricultor cooperante en conjunto con Monsanto o quien él designe, debe seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-009 “MONITOREO Y DESTRUCCIÓN DE PLANTAS VOLUNTARIAS DE SEMILLA GM”**. Para asegurar el correcto seguimiento a la implementación y documentación del programa de monitoreo y destrucción de plantas voluntarias.

El área de monitoreo de plantas voluntarias incluye el área del ensayo mas el área del bordo, que debe de estar delimitada con marcadores físicos temporales en el terreno (por ejemplo, estacas de madera, postes de metal, PVC o fibra de vidrio) de manera que el área a monitorear esté señalizada. El área a monitorear debe de ampliarse para incluir área donde la semilla pudo haber sido dispersa fuera del área de la siembra durante las operaciones de cosecha e incluyendo áreas donde la maquinaria para la destrucción de esquilmos (desvaradora, rastra, arado, etc.), haya pasado. Todas las plantas voluntarias en el área monitoreada deben de ser destruidas antes de la floración. Los métodos para eliminar plantas voluntarias incluyen rastra y arado, eliminación manual usando tijeras de podar de mango largo, palas y/o desenterrándolas para evitar rebrote, esta actividad debe quedar registrada en **RE-ST-RG-01 “REPORTE DE MONITOREO DE PLANTAS VOLUNTARIAS” (ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001)**.

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.

Las semillas a utilizar para el establecimiento de los ensayos regulados en campo deberán ser transportadas en contenedores seguros y adecuadas. Cualquier formato de contenedor y/o empaque utilizado para el transporte y almacenamiento de semilla y/o grano debe prevenir liberaciones accidentales y/o no intencionales. La semilla será importada, manejada, preparada para siembra y sembrada por personal de Monsanto con el soporte del agricultor cooperante.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (**PRIMAVERA-VERANO 2014**).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Los embarques de semilla deberán de estar claramente identificados con la **RE-ST-RG-15 ETIQUETA PARA TRANSPORTE DE MATERIAL GM**. Importante no dejar ninguna información en blanco. Y cumplir con la forma de empaque de acuerdo a lo establecido en el procedimiento **DMP-STW-LAN-006 “ALMACENAMIENTO, PREPARACIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE SEMILLA GM”** y cumplir en forma con el llenado, documentación y resguardo de la información descrita en dicho procedimiento. Es responsabilidad del personal que reciba el envío de semilla confirmar fehacientemente que el envío/cargamento ha llegado intacto y que no ha habido pérdida alguna. Posteriormente, quien recibe el envío debe informarle al despachador que el material se recibió en condiciones satisfactorias las condiciones de envío y recepción (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

Si antes o durante el proceso de siembra del ensayo regulado hubiera una liberación accidental de semillas OGM, el incidente debe mantenerse bajo control y seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-013 “MANEJO DE DERRAME Y LIBERACIÓN NO-INTENCIONAL DE MATERIAL GM”** para recuperar la semilla y restaurar el control de la situación, llenar el registro **RE-ST-RG-03 “REPORTE DE INCIDENTES STEWARDSHIP”** e informar dentro de las primeras 24 horas del incidente al líder de Stewardship, todo el material recuperado deberá ser almacenado y controlado en un contenedor independiente y esperar instrucciones para su de-ventilización, junto con las autoridades regulatorias.

El responsable de Stewardship debe notificar a las autoridades correspondientes dentro de las 24 horas siguientes a que se tenga conocimiento de la misma e informar por escrito físicamente en un periodo de 3 días hábiles (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Procedimiento para el almacenamiento de la semilla de algodón RF.

Monsanto es responsable del resguardo, custodia, manejo del inventario y disposición de toda semilla GM, debiendo llevar registros individuales por evento y por lote de esta semilla para su mejor control, cumpliendo con lo estipulado en el **DMP-STW-LAN-006 “ALMACENAMIENTO, PREPARACIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE SEMILLA”** y cumplir en forma con el llenado, documentación y resguardo de la información descrita en dicho procedimiento en el registro de entradas y salidas de producto **RE-ST-RG-14 “ENTRADAS Y SALIDAS DE ALMACÉN DE MATERIAL GM”**. Estos registros son documentación de soporte del programa de seguimiento, verificación y cumplimiento regulatorio y Stewardship.

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 DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Monsanto cuenta con un centro de acopio y preparación especializado para el almacenamiento y manejo de la semilla, el área de almacenamiento debe ser un espacio adecuado para tal fin, debe cumplir como mínimo: control en las puertas de acceso y ventanas, que puedan ser cerradas y aseguradas, tener un espacio adecuado para cada contenedor de semilla y que impida la mezcla de diferentes eventos, el contenedor o estiba debe de tener una etiqueta que contenga mínimo la siguiente información: Producto Genéticamente Modificado, Tipo de evento transgénico, Híbrido o Variedad y Lote/identificación única, el área de almacenaje será etiquetada mencionando que contiene material vegetal experimental genéticamente modificado, y que el acceso es restringido, se debe de documentar el acceso de todas la personas al sitio de almacenamiento de material GM y el propósito de dicha visita en el registro correspondiente **RE-ST-RG-11 “CONTROL DE VISITAS A ALMACÉN CON SEMILLA GM”**.

El área de almacenamiento debe ser inspeccionada por personal de Stewardship o designados para verificar el cumplimiento y buenas prácticas de almacenamiento.

Toda la semilla remanente que no se haya utilizado en las siembras del ensayo, debe de permanecer resguardada, almacenada e inventariada de acuerdo al **DMP-STW-LAN-006 “ALMACENAMIENTO, PREPARACIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE SEMILLA GM”**, en caso de que se decida de-vitalizar la semilla sobrante de dichos materiales se deberá notificar a SAGARPA para que supervise y verifique la operación (incineración, molienda, etc.). Usar el **RE-ST-RG-04 “REGISTRO DE MATERIAL PARA DESVITALIZAR”**. Una copia del acta de la de-vitalización debe de ser anexada al record del inventario de cada evento y lote, documentar en el **RE-ST-RG-14 “ENTRADAS Y SALIDAS DE ALMACÉN DE MATERIAL GM”** para comprobar su disposición final y cerrar el inventario correspondiente.

Si dentro del almacén de semilla regulada hubiera una liberación accidental de semilla OGM, el incidente debe mantenerse bajo control y seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-013 “MANEJO DE DERRAME Y LIBERACIÓN NO-INTENCIONAL DE MATERIAL GM”** para recuperar la semilla y restaurar el control de la situación, llenar el registro **RE-ST-RG-03 “REPORTE DE INCIDENTES STEWARDSHIP”** e informar dentro de las primeras 24 horas del incidente al líder de Stewardship, todo el material recuperado deberá ser almacenado y controlado en un contenedor independiente y esperar instrucciones para su de-vitalización, junto con las autoridades regulatorias.

El responsable de Stewardship debe notificar a las autoridades correspondientes dentro de las 24 horas siguientes a que se tenga conocimiento de la misma e informar por escrito físicamente en un periodo de 3 días hábiles.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

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 **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.

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 las plantas usualmente crecen y desarrollan terminaciones florales, sus anteras 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 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 las 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.

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 autoridad en el permiso 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)**.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014)**.

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 **GUÍA TÉCNICA DE USO DE TECNOLOGÍAS 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-2014 en la región del **Estado de Sinaloa**, se llevarán a cabo una serie de eventos que nos permitirán 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.

Si antes o durante el proceso de siembra del ensayo regulado hubiera una liberación accidental de semillas OGM, el incidente debe mantenerse bajo control y seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-013 “MANEJO DE DERRAME Y LIBERACIÓN NO-INTENCIONAL DE MATERIAL GM”** para recuperar la semilla y restaurar el control de la situación, llenar el registro **RE-ST-RG-03 “REPORTE DE INCIDENTES STEWARDSHIP”** e informar dentro de las primeras 24 horas del incidente al líder de Stewardship, todo el material recuperado deberá ser almacenado y controlado en un contenedor independiente y esperar instrucciones para su desactivación junto con las autoridades regulatorias.

El responsable de Stewardship debe notificar a las autoridades correspondientes dentro de las 24 horas siguientes a que se tenga conocimiento de la misma e informar por escrito físicamente en un periodo de 3 días hábiles.

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 **Documento de Mejores Prácticas (ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001)**, cuyo objetivo principal es el de proveer los lineamientos de las mejores prácticas y recomendaciones generales para el transporte, almacenamiento, 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.

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 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 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 **Documento de Mejores Prácticas (ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001)**.

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 **Documento de Mejores Prácticas (ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001)**.

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. 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

En algunas circunstancias se puede dar por terminada una siembra antes de la fecha prevista para su cosecha, por ejemplo debido a condiciones ambientales desfavorables (como, granizo, sequías, huracanes, etc.) o debido a consideraciones relacionadas con el cumplimiento de las condiciones establecidas en el permiso. Las siembras que deben darse por finalizadas en forma temprana serán cortadas, trituradas e incorporadas al suelo mediante prácticas culturales. Se debe de documentar esta operación de destrucción de acuerdo al **DMP-STW-LAN-024 FINALIZACIÓN ANTICIPADA DE ENSAYOS OGM**. Deberá de iniciarse el monitoreo de voluntarios de acuerdo al protocolo **DMP-STW-LAN-009 “MONITOREO Y DESTRUCCIÓN DE PLANTAS VOLUNTARIAS DE SEMILLA GM”**.

El responsable de Monsanto o asignado a la localidad a cosechar deberá de monitorear las actividades de preparación y ejecución de la cosecha de acuerdo al protocolo o seguir el siguiente procedimiento:

- a) El técnico, agricultor y/o especialista de campo revisará la humedad del predio para determinar un período tentativo de cosecha, en base a la humedad del grano o fibra.
- b) Que el material cosechado no se mezcle inadvertidamente con otro.
- c) Que cada muestra y/o contenedor con semilla o fibra OGM sea etiquetado con **RE-ST-RG-16 ETIQUETA IDENTIFICADOR ÚNICO PARA GM** para no perder la trazabilidad del producto.
- d) Documentación de estimaciones de producción, del transportista, cadena de custodia y verificación de las condiciones del contenedor a utilizar para la movilización del grano o fibra para prevenir posibles liberaciones accidentales y/o no intencionales, utilizar el formato **RE-ST-RG-02 “REGISTRO DE TRANSPORTE DE MATERIAL GM DE CAMPO”**.
- e) La limpieza de los equipos durante el proceso de cosecha deben ser realizadas antes y después de utilizarlos y documentarse en el formato **RE-ST-RG-09 “VERIFICACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS PARA ENSAYOS CONFINADOS”**.
- f) En caso de que el proceso de cosecha, desgrane, de-vitalización tenga que ser interrumpido (causas no controlables, climáticas, seguridad, etc.) y/o haya necesidad de transportar material para procesamiento a otra localidad, asegurar la documentación de la vigilancia, resguardo y custodia de los materiales regulados utilizando el registro **RE-ST-RG-02 “REGISTRO DE TRANSPORTE DE MATERIAL GM DE CAMPO”**.
- g) Verificar que todo el material vegetal remanente debe ser triturado e incorporado al suelo después de la cosecha de modo tal que resulte inviable y se procederá al inicio del programa de monitoreo de plantas voluntarias por el siguiente ciclo agrícola (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 del **Estado de Sinaloa (Cuadro 3)**:

Cuadro 3. Despepites autorizados para la región del Estado de Sinaloa.

Despepite	Dirección	Ubicación
Industrial Algodonera Corerepe, S.A. de C.V.	Carretera Internacional México – Nogales km 1,619.5. Los Mochis, Sin.	N 25° 47' 16.6" W 108° 53' 43.5" MSNM 3
Algodones Sinaloa, S.A. de C.V.	Calle 0 y Carretera Internacional km 175.5. Adolfo Ruíz Cortínez, Guasave, Sin.	N 25° 42' 47.8" W 108° 43' 10.5" MSNM 3
Del Fuerte Cotton, S.A. de C.V.	Carretera Internacional km 1600 y Calle 2 Ruíz Cortínez, Guasave, Sin.	N 25° 42' 1.6" W 108° 42' 3.2" MSNM 3
Algodonera González	Carretera Internacional km 1596 y Calle 1 Ejido Figueroa, Guasave, Sin.	N 25° 41' 54.4" W 108° 42' 2.8" MSNM 4
Agrovización Integradora, S.A. de C.V.	Carretera a Navolato S/N Navolato, Sinaloa, México. C.P. 80370	N 24.74988 W 107.67565

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 varia 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%.

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 algodoneras del norte de México durante varios ciclos agrícolas.

El algodón biotecnológico **RF** ha sido liberado en las regiones algodoneras del norte de México durante varios ciclos agrícolas durante los cuales se ha demostrado buenos rendimientos a través del uso del glifosato como herbicida total para el control de las malezas que compiten con el algodón por los recursos.

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 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 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 algodoneras del mundo donde se cultivan variedades de algodón biotecnológico.

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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 (Ver carpeta de Reportes USDA y el CD entregado junto con este documento con información relativa al “Estudio de los posibles riegos que la liberación de OGM’s pudieran causar a la Sanidad vegetal”)**.

Por último, 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).

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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

ALGODÓN **SOLUCIÓN FAENA FLEX®** (MON-88913-8).REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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.

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**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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

Por otro lado, 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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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 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

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (**PRIMAVERA-VERANO 2014**).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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. Apostilla 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. Apostilla 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[®] (**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.

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 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).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

- 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 Permiso Liberación al Ambiente en **ETAPA EXPERIMENTAL** para el organismo genéticamente modificado algodón **RF** (evento MON-88913-8) contempla el ciclo Primavera – Verano de 2014 en la región agrícola del **Estado de Sinaloa**.

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.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (**PRIMAVERA-VERANO 2014**).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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-2014 en el Estado de Sinaloa se solicitan 11,500 hectáreas y 195,500 kg de semilla de algodón **RF** para sembrarse a una densidad de 17 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 DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

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

Centros de almacenamiento regionales.

AGROPRODUCTOS ALFER, S.A de C.V.		
Oficina y Bodega	Bld. 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" MSNM 4
Bodega Zona Industrial	Bld. Topolobampo S/N Zona Industrial Jiquilpan. Los Mochis, Sin. C.P. 81255	N 25° 47' 35.8" W 108° 57' 10.6" MSNM 3
Bodega Guasave	Av. Niños Héroes S/N Guasave, Sin. C.P. 81200	N 25° 34' 43.1" W 108° 27' 44.0" MSNM 4
Bodega Culiacán	Ferrocarril del Pacífico #12221 Aguaruto, Culiacán, Sin.	N 24.77354 W 107.50769 MSNM 9
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" MSNM 6

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

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" MSNM 24
Bodega Los Mochis	Bld. Adolfo López Mateos No. 2095 Nte. Col. Las Fuentes, Los Mochis, Sin. C.P. 81223	N 25° 34' 38.1" W 108° 27' 56.2" MSNM 16
Bodega Guasave	Bld. Central No. 1134, Col. Ejidal. Guasave, Sin C.P. 81020	N 25° 34' 38.1" W 108° 27' 56.2"
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" MSNM 4
Bodega Zona Industrial	Carretera Internacional México-Nogales km 1,619.5 Los Mochis, Sin.	N 25° 47' 16.6" W 108° 53' 43.5" MSNM 3
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" MSNM 3
Bodega	Carretera Internacional y Calle 2. A. Ruíz Cortínez, Guasave, Sin.	N 25° 42' 1.6" W 108° 42' 3.2" MSNM 3
AGROVIZIÓN INTEGRADORA, S.A. de C.V.		
Bodega	Carretera a Navolato S/N C.P. 80370 Navolato, Sinaloa.	N 24.74988 W 107.67565

Transporte de la semilla

Las semillas a utilizar para el establecimiento de los ensayos regulados en campo deberán ser transportadas en contenedores seguros y adecuadas. Cualquier formato de contenedor y/o empaque utilizado para el transporte y almacenamiento de semilla y/o grano debe prevenir liberaciones accidentales y/o no intencionales. La semilla será importada, manejada, preparada para siembra y sembrada por personal de Monsanto con el soporte del agricultor cooperante.

Los embarques de semilla deberán de estar claramente identificados con la **RE-ST-RG-15 ETIQUETA PARA TRANSPORTE DE MATERIAL GM**. Importante no dejar ninguna información en blanco. Y cumplir con la forma de empaque de acuerdo a lo establecido en el procedimiento **DMP-STW-LAN-006 "ALMACENAMIENTO, PREPARACION, EMPAQUE Y ENVIO DE SEMILLA GM"** y cumplir en forma con el llenado, documentación y resguardo de la información descrita en dicho procedimiento. Es responsabilidad del personal que reciba el envío de semilla confirmar fehacientemente que el envío/cargamento ha llegado intacto y que no ha habido pérdida alguna. Posteriormente, quien recibe el envío debe informarle al despachador que el material se recibió en condiciones satisfactorias las condiciones de envío y recepción (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL **ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).**

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.
- 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.

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 DEL ESTADO DE SINALOA (**PRIMAVERA-VERANO 2014**).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Medidas en caso de una liberación accidental durante el transporte.

Si antes o durante el proceso de siembra del ensayo regulado hubiera una liberación accidental de semillas OGM, el incidente debe mantenerse bajo control y seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-013 “MANEJO DE DERRAME Y LIBERACIÓN NO-INTENCIONAL DE MATERIAL GM”** para recuperar la semilla y restaurar el control de la situación, llenar el registro **RE-ST-RG-03 “REPORTE DE INCIDENTES STEWARDSHIP”** e informar dentro de las primeras 24 horas del incidente al líder de Stewardship, todo el material recuperado deberá ser almacenado y controlado en un contenedor independiente y esperar instrucciones para su de- vitalización, junto con las autoridades regulatorias.

El responsable de Stewardship debe notificar a las autoridades correspondientes dentro de las 24 horas siguientes a que se tenga conocimiento de la misma e informar por escrito físicamente en un periodo de 3 días hábiles (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

Procedimiento para el almacenamiento de la semilla de algodón RF.

Monsanto es responsable del resguardo, custodia, manejo del inventario y disposición de toda semilla GM, debiendo llevar registros individuales por evento y por lote de esta semilla para su mejor control, cumpliendo con lo estipulado en el **DMP-STW-LAN-006 “ALMACENAMIENTO, PREPARACIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE SEMILLA”** y cumplir en forma con el llenado, documentación y resguardo de la información descrita en dicho procedimiento en el registro de entradas y salidas de producto **RE-ST-RG-14 “ENTRADAS Y SALIDAS DE ALMACEN DE MATERIAL GM”**. Estos registros son documentación de soporte del programa de seguimiento, verificación y cumplimiento regulatorio y Stewardship.

Monsanto cuenta con un centro de acopio y preparación especializado para el almacenamiento y manejo de la semilla, el área de almacenamiento debe ser un espacio adecuado para tal fin, debe cumplir como mínimo: control en las puertas de acceso y ventanas, que puedan ser cerradas y aseguradas, tener un espacio adecuado para cada contenedor de semilla y que impida la mezcla de diferentes eventos, el contenedor o estiba debe de tener una etiqueta que contenga mínimo la siguiente información: Producto Genéticamente Modificado, Tipo de evento transgénico, Híbrido o Variedad y Lote/identificación única, el área de almacenaje será etiquetada mencionando que contiene material vegetal experimental genéticamente modificado, y que el acceso es restringido, se debe de documentar el acceso de todas las personas al sitio de almacenamiento de material GM y el propósito de dicha visita en el registro correspondiente **RE-ST-RG-11 “CONTROL DE VISITAS A ALMACEN CON SEMILLA GM”**.

El área de almacenamiento debe ser inspeccionada por personal de Stewardship o designados para verificar el cumplimiento y buenas prácticas de almacenamiento.

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO.

SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN ETAPA EXPERIMENTAL.

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

REGION AGRÍCOLA DEL ESTADO DE SINALOA (PRIMAVERA-VERANO 2014).

DEPARTAMENTO DE ASUNTOS REGULATORIOS

Toda la semilla remanente que no se haya utilizado en las siembras del ensayo, debe de permanecer resguardada, almacenada e inventariada de acuerdo al **DMP-STW-LAN-006 “ALMACENAMIENTO, PREPARACIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE SEMILLA GM”**, en caso de que se decida de-vitalizar la semilla sobrante de dichos materiales se deberá notificar a SAGARPA para que supervise y verifique la operación (incineración, molienda, etc.). Usar el **RE-ST-RG-04 “REGISTRO DE MATERIAL PARA DESVITALIZAR”**. Una copia del acta de la de-vitalización debe de ser anexada al record del inventario de cada evento y lote, documentar en el **RE-ST-RG-14 “ENTRADAS Y SALIDAS DE ALMACEN DE MATERIAL GM”** para comprobar su disposición final y cerrar el inventario correspondiente.

Si dentro del almacén de semilla regulada hubiera una liberación accidental de semilla OGM, el incidente debe mantenerse bajo control y seguir el protocolo **DMP-STW-LAN-013 “MANEJO DE DERRAME Y LIBERACIÓN NO-INTENCIONAL DE MATERIAL GM”** para recuperar la semilla y restaurar el control de la situación, llenar el registro **RE-ST-RG-03 “REPORTE DE INCIDENTES STEWARDSHIP”** e informar dentro de las primeras 24 horas del incidente al líder de Stewardship, todo el material recuperado deberá ser almacenado y controlado en un contenedor independiente y esperar instrucciones para su de-vitalización, junto con las autoridades regulatorias.

El responsable de Stewardship debe notificar a las autoridades correspondientes dentro de las 24 horas siguientes a que se tenga conocimiento de la misma e informar por escrito físicamente en un periodo de 3 días hábiles (**ANEXO 14. DMP-STW-LAN-001**).

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 aldoneras del norte de México son los siguientes:

1.- EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DEL ALGODÓN BOLLGARD®II/SOLUCIÓN FAENA FLEX® (MON-15985-7 x MON-88913-8) Y SOLUCIÓN FAENA FLEX® (MON-88913-8) EN EL ESTADO DE SINALOA, DURANTE EL CICLO AGRÍCOLA PRIMAVERA – VERANO (PV) 2014 (ANEXO 21).

2.- INFORME COSTO-BENEFICIO CON ENFOQUE AMBIENTAL DEL PROGRAMA DE ALGODÓN SOLUCIÓN FAENA FLEX® (MON-88913-8) EN EL ESTADO DE SINALOA, CICLO PV-2014 (ANEXO 22).