

## **Información Pública**

**SOLICITUD DE PERMISO PARA LA LIBERACIÓN EN  
AMBIENTE EN PROGRAMA EXPERIMENTAL DEL  
ORGANISMO GENETICAMENTE MODIFICADO (OGM)  
TRIGO-NAS2  
EN EL ESTADO DE MORELOS, OTOÑO-INVIERNO  
2016-2017**



**Centro Internacional de Mejoramiento  
de Maíz y Trigo, CIMMYT**

## INDICE GENERAL

I. Caracterización del OGM .....	5
I.a) Identificador único del evento de transformación, de organismos internacionales de los que México sea parte, cuando exista. ....	5
I.b) Especies relacionadas con el OGM y distribución de éstas en México.....	5
I.c) Especificación de la existencia de especies sexualmente compatibles .....	7
I.d) Descripción de los hábitats donde el OGM puede persistir o proliferar en el ambiente de liberación. ....	7
I.e) Descripción taxonómica del organismo receptor y donador de la construcción genética. ....	8
I.f) País y localidad donde el OGM fue colectado, desarrollado o producido .....	9
I.g) Referencia documental sobre origen y diversificación del organismo receptor.....	9
I.h) Secuencia génica detallada del evento de transformación, incluyendo tamaño del fragmento insertado, sitio de inserción de la construcción genética, incluyendo las secuencias de los oligonucleótidos que permitan la amplificación del sitio de inserción. ....	10
I.i) Descripción de las secuencias flanqueantes, número de copias insertadas, y los resultados de los experimentos que comprueben los datos anteriores, así como la expresión de mensajeros del evento de transformación genética, incluyendo la demostración de los resultados .....	10
I.j) Mapa de la construcción genética, tipo de herencia de los caracteres producto de los genes insertados, expresión de las proteínas y localización de las mismas. ....	11
I.k) Descripción del método de transformación. ....	11
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 los efectos no esperados.....	11
I.m) Secuencia de aminoácidos y de las proteínas novedosas expresadas por el OGM, tamaño del producto del gen, expresión de copias múltiples. ....	11
I.n) Rutas metabólicas involucradas en la expresión del transgen y sus cambios .....	11
I.o) Productos de degradación de la proteína codificada por el transgen en subproductos. ....	13
I.p) Secuencia nucleotídica de las secuencias reguladoras incluyendo promotores, terminadores y otras, y su descripción, número de copias insertadas, pertenencia de éstas secuencias a la especie receptora, inclusión de secuencias reguladoras homólogas a la especie receptora. ....	13
I.q) Patogenicidad o virulencia de los organismos donadores y receptores. ....	14
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 éstos genes .....	15
I.s) Número de generaciones que mostraron estabilidad en la herencia del transgen .....	15
I.t) Referencia bibliográfica sobre los datos presentados .....	15
II. Identificación de la zona o zonas donde se pretenda liberar el OGM.....	16
II.a) Superficie total del polígono o polígonos donde se realizará la liberación. ....	16

II.b) Ubicación, en coordenadas UTM, del polígono o polígonos donde se realizará la liberación .....	16
II.c) Descripción de los polígonos donde se realizará la liberación y de las zonas vecinas a éstos según las características de diseminación del OGM de que se trate .....	16
II.c.1) Listado de especies sexualmente compatibles y de las especies que tengan interacción en el área de liberación y en zonas vecinas a éstos .....	16
II.c.2) Descripción geográfica .....	16
II.c.3) Plano de ubicación señalando las principales vías de comunicación .....	17
III. Estudio de los posibles riesgos que la liberación de los OGMs pudiera generar al medio ambiente y a la diversidad biológica a los que se refiere el artículo 42, fracción III, de la Ley. Contendrá, además de lo dispuesto en el artículo 62 de la Ley, la información siguiente: .....	18
III.a) Estabilidad de la modificación genética del OGM.....	18
III.b) Expresión del gen introducido, incluyendo niveles de expresión de la proteína de interés en los diversos tejidos, así como los resultados que lo demuestren .....	18
III.c) Características del fenotipo del OGM .....	18
III.d) Identificación de cualquier característica física y fenotípica nueva relacionada con el OGM que pueda tener efectos adversos sobre la diversidad biológica y en el medio ambiente receptor del OGM .....	18
III.e) Comparación de la expresión fenotípica del OGM respecto al organismo receptor, la cual incluya al menos, ciclo biológico y cambios en la morfología básica .....	19
III.f) Declaración sobre la existencia de efectos sobre la diversidad biológica y al medio ambiente que se puedan derivar de la liberación del OGM .....	19
III.g) Descripción de uno o más métodos de identificación del evento específico del OGM, incluyendo niveles de sensibilidad y reproducibilidad, con la manifestación expresa del promotor de que los métodos de identificación son los reconocidos por el desarrollador del OGM para la detección del mismo .....	19
III.h) Existencia potencial de flujo génico del OGM a especies relacionadas .....	19
III.i) Bibliografía reciente de referencia a los datos presentados .....	19
IV. Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad y de bioseguridad a llevar a cabo .....	20
IV.a) Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad .....	20
IV.a.1) Plan de monitoreo detallado .....	20
IV.a.2) Estrategias de monitoreo posteriores a la liberación del OGM, con el fin de detectar cualquier interacción entre el OGM y especies presentes relevantes, directa o indirectamente, en la zona o zonas donde se pretenda realizar la liberación, cuando existan .....	20
IV.a.3) Estrategias para la detección del OGM y su presencia posterior en la zona o zonas donde se pretenda realizar la liberación y zonas vecinas, una vez concluida la liberación .....	21
IV.b) Medidas y procedimientos de bioseguridad:.....	21
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.....	21

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 .....	24
IV.b.3) Medidas para la erradicación del OGM en zonas distintas a las permitidas .....	24
IV.b.4) Medidas para el aislamiento de la zona donde se pretenda liberar experimentalmente el OGM.....	24
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 .....	25
IV.b.6) Métodos de limpieza o disposición final de los residuos de la liberación.....	25
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: .....	26
V. a) Descripción de la zona en donde se realizó la liberación.....	27
V.b) Efectos de la liberación sobre la flora y la fauna .....	27
V.c) Estudio de los posibles riesgos de la liberación de los OGMs presentado en el país de origen, cuando haya sido requerido por la autoridad de otro país y se tenga acceso a él. La descripción de las medidas y procedimientos de monitoreo de bioseguridad establecidos deberá incluirse en el estudio.....	27
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, así como las consideraciones socioeconómicas que existan respecto de la liberación de OGMs al ambiente. Estos análisis deberán estar sustentados en evidencias científicas y técnicas, en los antecedentes sobre uso, producción y consumo, y podrán ser considerados por las Secretarías competentes como elementos adicionales para decidir sobre la liberación experimental al ambiente, y consecuentes liberaciones al ambiente en programa piloto y comercial, respectivamente, del OGM de que se trata. ....	27
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, al menos para su liberación experimental, traducida al español. La Secretaría competente, de considerarlo necesario, podrá requerir copia simple de la legislación aplicable vigente en el país de exportación traducida al español. ....	27
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. ....	27
VII. Número de autorización expedida por SALUD cuando el OGM tenga finalidades de salud pública o se destine a la biorremediación. En caso de no contar con la autorización al momento de presentar la solicitud de permiso, el promovente podrá presentarla posteriormente anexa a un escrito libre, en el que se indique el número de autorización.....	27
VIII. La propuesta de vigencia para el permiso y los elementos empleados para determinarla.....	28

## I. Caracterización del OGM

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

Co-transformación biobalística de plantas de trigo harinero de la variedad Bobwhite utilizándose:

Gen de interés

Gen NAS2 (también llamado OsNAS2, Nicotianamine synthase gene 2) de arroz (*Oryza sativa*)

Gen marcador: Resistencia a Higromicina

Gen HPT (Hygromycin resistance gene codificando hygromycin phosphotransferasa) proveniente de *Escherichia coli*

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

#### - Especies relacionadas con el OGM

Género *Triticum*:

Especies del género *Triticum* (no se mencionan las sinonimias):

- *Triticum aethiopicum*
- *Triticum araraticum*
- *Triticum boeoticum*
- *Triticum carthlicum*
- *Triticum compactum*
- *Triticum dicoccoides*
- *Triticum dicoccum*
- *Triticum durum*
- *Triticum ispahanicum*
- *Triticum karamyshevii*
- *Triticum macha*
- *Triticum militinae*
- *Triticum monococcum*
- *Triticum polonicum*
- *Triticum repens*
- *Triticum spelta*
- *Triticum sphaerococcum*
- *Triticum timopheevii*
- *Triticum turanicum*
- *Triticum turgidum*
- *Triticum urartu*
- *Triticum vavilovii*
- *Triticum zhukovskyi*

Género *Aegilops*

Especies del género *Aegilops* (no se mencionan las sinonimias):

- *Aegilops bicornis*
- *Aegilops columnaris*
- *Aegilops comosa*
- *Aegilops crassa*
- *Aegilops cylindrica*
- *Aegilops juvenalis*

- *Aegilops kotschy*
- *Aegilops longissima*
- *Aegilops lorentii*
- *Aegilops neglecta*
- *Aegilops searsii*
- *Aegilops speltoides*
- *Aegilops tauschii*
- *Aegilops triuncialis*
- *Aegilops umbellulata*
- *Aegilops ventricosa*

#### - **Distribución en México**

El Herbario Nacional de México (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias UNAM, México) cuenta con ejemplares de las siguientes especies de trigos, además de las entradas de correspondientes a *Triticum aestivum*:

- *Triticum campestris*. Fecha de recolección: 2/1/1980. Recolectado por Alicia Ortiz Calderón. No se especifica el lugar de recolección.
- *Triticum sativum*. 2 entradas. Recolectado en noviembre de 1917, en el Valle de Teotihuacán, Hacienda Santa Catarina, Estado de México.
- *Triticum sativum*. Recolectado en Curungueo, 4 km al norte de Zitacuaro, Michoacán, en marzo de 1984.
- *Triticum vulgare*. Recolectado en el Campo Experimental Pabellón, Estado de México, en noviembre de 1965

*Aegilops cylindrica* (Zacate cara de cabra), perteneciente a un género antecesor del trigo harinero, ha sido identificada en el Estado de Chihuahua (SAGAR, 1995). Esta especie se encuentra documentada en el Herbario Nacional, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias UNAM, México, con un espécimen recolectado por J. Valdés, en el Estado de Chihuahua, el 17 de mayo de 1975. Además, es reconocida como establecida en México por la Conabio (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad)

[http://www.conabio.gob.mx/invasoras/index.php/Especies\\_invasoras\\_-\\_Plantas](http://www.conabio.gob.mx/invasoras/index.php/Especies_invasoras_-_Plantas)

Sin embargo, el género *Aegilops* no es enumerado en el listado de malezas frecuente en México:

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>

**No se han observado especies silvestres de trigo (*Triticum*) o emparentadas (*Aegilops*) en el área correspondiente al ensayo y zona aledaña.**

Fuentes consultadas:

- Bases de datos de Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)
  - Conabio » Proyecto de bioseguridad GEF-CIBIOGEM » Consultas al Sistema de Información de los Organismos Vivos Modificados (SIOVM)
  - Conabio » Fichas especies NOM-059-SEMARNAT-2001 » Plantas
- Red Mundial de Información sobre Biodiversidad - Red inter-institucional que comparte información biológica. Está constituida por nodos, formados por los centros de investigación que albergan las colecciones científicas. [http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/remib\\_esp.html](http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/remib_esp.html)
- Herbario, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias UNAM, México - Herbario Nacional. <http://www.ibiologia.unam.mx/mexu/>
- Herbario de Geo. B. Hinton, México - <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/hinton.html>

- Herbario Unidad Chetumal El Colegio de la Frontera Sur, Quintana Roo, México (CIQR)  
<http://w2.ecosur-qroo.mx/herbario.htm>
- Herbario de la Universidad de Texas - Austin, EUA (LL, TEX) -  
<http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/ll-tex.html>

### **I.c) Especificación de la existencia de especies sexualmente compatibles**

#### **Géneros que potencialmente podrían ser sexualmente compatibles con plantas de trigo:**

##### **- Especies del género *Triticum***

Al género *Triticum* pertenecen especies diploides y poliploides con varias combinaciones de genomas. Los posibles genomas del género *Triticum* son cinco (Am, Au, B, D y G) y según ellos se han clasificado a los trigos como:

- T. aestivum*; trigo harinero; posee el genoma B+Au+D
- T. monococcum*; posee el genoma Am
- T. urartu*; posee el genoma Au
- T. turgidum*; trigos duros, posee el genoma B+Au
- T. timopheevi*; posee en genoma G+Au

La fertilidad entre especies del género *Triticum* es posible de acuerdo con los niveles de ploidia y compatibilidad de los genomas. Las especies que comparten un mismo genoma son más interfértiles entre sí. Sin embargo, los híbridos resultantes de cruzamientos ínterespecíficos podrían ser estériles en su función masculina y parcialmente fértiles en su función femenina.

##### **- Especies del género *Aegilops***

Se ha observado hibridización natural entre *Aegilops cylindrica* (Zacate cara de cabra) y plantas de trigo. El porcentaje de polinización cruzada entre plantas del género *Aegilops* y plantas de trigo se estima en un 2%. Sin embargo, la posibilidad de flujo génico es baja debido a que sería necesario que las especies estén físicamente cercanas y sean compatibles, que la emisión de polen esté sincronizada con el período receptivo del estigma, y que exista viabilidad en la descendencia.

##### **- Especies del género *Secale***

El centeno (*Secale cereale*) es una especie relacionada con el trigo en forma más distante. Si bien la hibridización artificial entre centeno y trigo es posible, no se han encontrado híbridos naturales en Estados Unidos y no hay reportes de estos cruzamientos naturales en Canadá o México. El centeno no ha sido identificado como especie invasora o maleza.

Consideración general: Si llegara a ocurrir hibridización natural, hay tres dificultades para los híbridos resultantes de trigo y especies silvestres: i) la incompatibilidad, ii) la baja viabilidad en la F1 (primer generación), y iii) la esterilidad de la F1 o su descendencia.

##### **- Presencia de especies sexualmente compatibles con trigo en el área de estudio:**

Según los relevamientos y consultas realizadas, no se han encontrado especies de trigos o relacionadas con trigo creciendo en forma natural en el área de estudio.

Siendo que el ensayo se realizará en condiciones controladas, no habrá plantas relacionadas con el trigo -ajenas al ensayo- en el área correspondiente al ensayo y zonas cercanas.

Referencias: Hegde and Waines, 2004, Waines and Hegde, 2003, Zaharieva and Monneveux, 2006.

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

Las plantas de trigo transformadas por el gen *NAS2* podrían cultivarse en los mismos hábitats que las plantas de trigo convencional. Se sugiere que la presencia del gen *NAS2* conferiría mayor rendimiento potencial.

El trigo es una especie adaptada a ambientes templados; sin embargo, su gran plasticidad y la necesidad de extender el área de cultivo a zonas marginales ha aumentado el área de siembra. A nivel mundial, se dedican a la producción de trigo más tierras que a cualquier otro cultivo comercial, llegando a 210 millones de hectáreas. La temperatura ideal para el crecimiento y desarrollo del cultivo de trigo está entre 10 y 24 °C. El trigo puede desarrollarse bien con 300 ó 400 mm, siempre que la distribución sea adecuada. Comúnmente se cultiva en regiones de 400 a 750 mm anuales, aunque existen cultivos en regiones con precipitaciones de hasta casi 3000 mm. La floración es uno de los periodos de mayor sensibilidad a la falta de agua. El trigo es el cereal alimentario número uno consumido directamente por los seres humanos y su producción supera la de cualquiera de los otros cultivos. Prácticamente todo el trigo en México se cultiva en condiciones de riego y la mayor parte en los valles costeros de los estados de Sonora y Sinaloa, en el noroeste de México. Se cultivan alrededor de 100,000 ha de trigo en la meseta central del país y también hay alguna producción en las tierras altas de temporal (Sagarpa- <http://www.simom.gob.mx/siapmms>).

#### **I.e) Descripción taxonómica del organismo receptor y donador de la construcción genética.**

##### **Organismo receptor:**

*Triticum aestivum* (L)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Triticum*

Especie: *aestivum*

Nombre científico - *Triticum aestivum* (L)

Nombres comunes – trigo harinero; trigo de primavera

Trigo harinero: Trigo hexaploide (6x); genoma BA<sup>u</sup>D

Clasificación genética (GRIN Taxonomy for Plants) *T. aestivum* subespecie *aestivum*

Nombre del germoplasma – Bobwhite

##### **Organismos donadores:**

*Zea mays* (maíz)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *mays*

Nombre binomial: *Zea mays* L.

*Oryza sativa* (arroz)

Reino: Plantae

División: Angiosperms

Clase: Monocots

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Oryza*  
Especie: *O. sativa*  
Nombre binomial: *Oryza sativa*

*Agrobacterium tumefaciens* - Agrobacteria  
Reino: Bacteria  
División: Proteobacteria  
Clase: Alpha Proteobacteria  
Orden: Rhizobiales  
Familia: Rhizobiaceae  
Género: *Agrobacterium*  
Especie: *tumefaciens*  
Nombre binomial: *Agrobacterium tumefaciens*

*Escherichia coli*  
Reino: Bacteria  
División: Proteobacteria  
Clase: Gamma Proteobacteria  
Orden: Enterobacteriales  
Familia: Enterobacteriaceae  
Género: *Escherichia*  
Especie: *coli*  
Nombre binomial: *Escherichia coli*

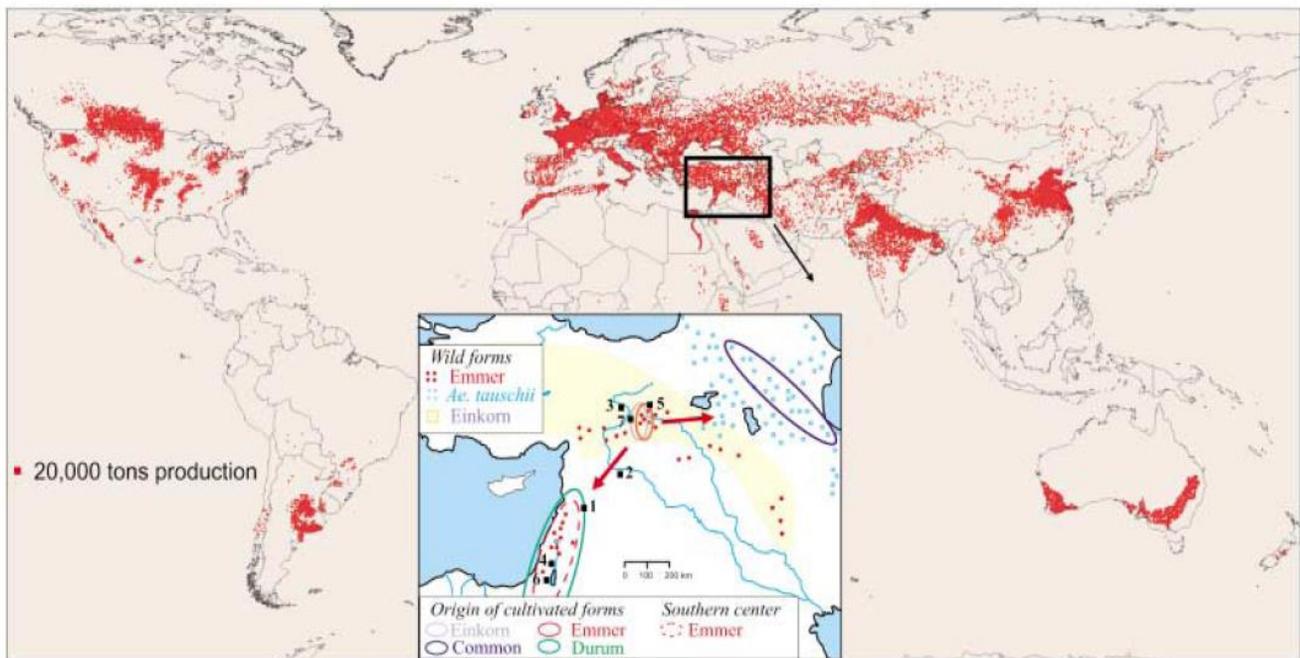
*Virus del mosaico de la coliflor*  
Grupo: VII (Virus ADN bicatenario retrotranscrito)  
Familia: Caulimoviridae  
Género: Caulimovirus  
Especie: Cauliflower mosaic virus

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

Australian Centre for Plant Functional Genomics  
Plant Genomics Centre  
Hartley Grove, Urrbrae  
PMB 1 Glen Osmond SA 5064  
Ph: +61 8 8313 7423; Fax: +61 8 8313 7102  
Email: [acpfgadmin@acpfg.com.au](mailto:acpfgadmin@acpfg.com.au)

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

El trigo tiene sus orígenes en el Sudoeste Asiático. Las evidencias arqueológicas más antiguas del cultivo de trigo vienen de Siria, Jordania, Turquía e Irak (Figura 1). En el siglo XIX aparece el molino de vapor con rodillos o cilindros de hierro que representó un cambio radical en la molienda. El cultivo del trigo fue aumentando a la par con estos y otras tecnologías que permitieron mejorar el rendimiento de la planta y llegar a diversas regiones del planeta.



**Figura 1.** Centro de origen y actual distribución del cultivo de trigo. Los óvalos en la figura central representan las regiones de origen de las formas cultivadas (tomado de Dubcovsky y Dvorak. 2007)

**I.h) Secuencia génica detallada del evento de transformación, incluyendo tamaño del fragmento insertado, sitio de inserción de la construcción genética, incluyendo las secuencias de los oligonucleótidos que permitan la amplificación del sitio de inserción.**

Información confidencial.

**I.i) Descripción de las secuencias flanqueantes, número de copias insertadas, y los resultados de los experimentos que comprueben los datos anteriores, así como la expresión de mensajeros del evento de transformación genética, incluyendo la demostración de los resultados**

Debido al método de transformación utilizado (biobalística), es probable que el sitio de inserción sea diferente para cada una de las líneas independientes. Se sembrarán tentativamente tres eventos independientes para esta transformación, a fin de evaluar un potencial efecto de posición del transgén.

El número de copias de los genes introducidos varía de uno a tres en líneas transgénicas individuales, pero las ubicaciones genómicas exactas de estos genes introducidos no son conocidas.

Los análisis de expresión confirmaron la sobre-expresión en eventos transformados, al compararse con eventos nulos. Se ha demostrado también una ventaja fenotípica en las plantas transgénicas, lo cual sería un indicador de la expresión del gen de interés insertado, así como de la ventaja de la transformación. Los estudios realizados demostraron que las líneas de trigo transformadas con el gen Ubi:NAS2 (OX) tuvieron un mayor número de macollas (tallos, biomasa vegetativa), así como un mayor rendimiento de grano, al compararse con el control no transformado (wild type, WT).

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

- **Mapa de la construcción genética.** Información confidencial.

- **Tipo de herencia de los caracteres producto de los genes insertados.**

En base a los patrones de segregación se estima que la herencia es de tipo mendeliana. Las relaciones generadas al comparar las plantas conteniendo el transgén (positivas) y aquellas sin el transgén (negativas) son comparadas con los modelos de segregación mendeliana usando análisis de chi-cuadrado.

- **Expresión de las proteínas y localización de las mismas**

Los análisis de expresión confirmaron la sobre-expresión en eventos transformados, al compararse con eventos nulos. Se ha demostrado también una ventaja fenotípica en las plantas transgénicas, lo cual sería un indicador de la expresión del gen de interés insertado, así como de la ventaja de la transformación. Los estudios realizados demostraron que las líneas de trigo transformadas con el gen Ubi:NAS2 (OX) tuvieron un mayor número de macollas (tallos, biomasa vegetativa), así como un mayor rendimiento de grano, al compararse con el control no transformado (wild type, WT).

**I.k) Descripción del método de transformación.**

La transformación en trigo se realizó usando procedimientos biolísticos basados en el método descrito en Sanford *et al.* (1993) y modificado por Vasil *et al.* (1999). El gen de interés y marcador seleccionable se prepararon para recubrir los micro-proyectiles antes de disparar. Detalles de modificaciones al protocolo de transformación se pueden encontrar en Kovalchuk *et al.*, 2009.

**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 los efectos no esperados.**

Las secuencias génicas insertadas fueron descritas en los puntos anteriores, no habiendo otras secuencias insertadas. Tampoco se han identificado efectos no esperados.

**I.m) Secuencia de aminoácidos y de las proteínas novedosas expresadas por el OGM, tamaño del producto del gen, expresión de copias múltiples.**

Información confidencial.

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

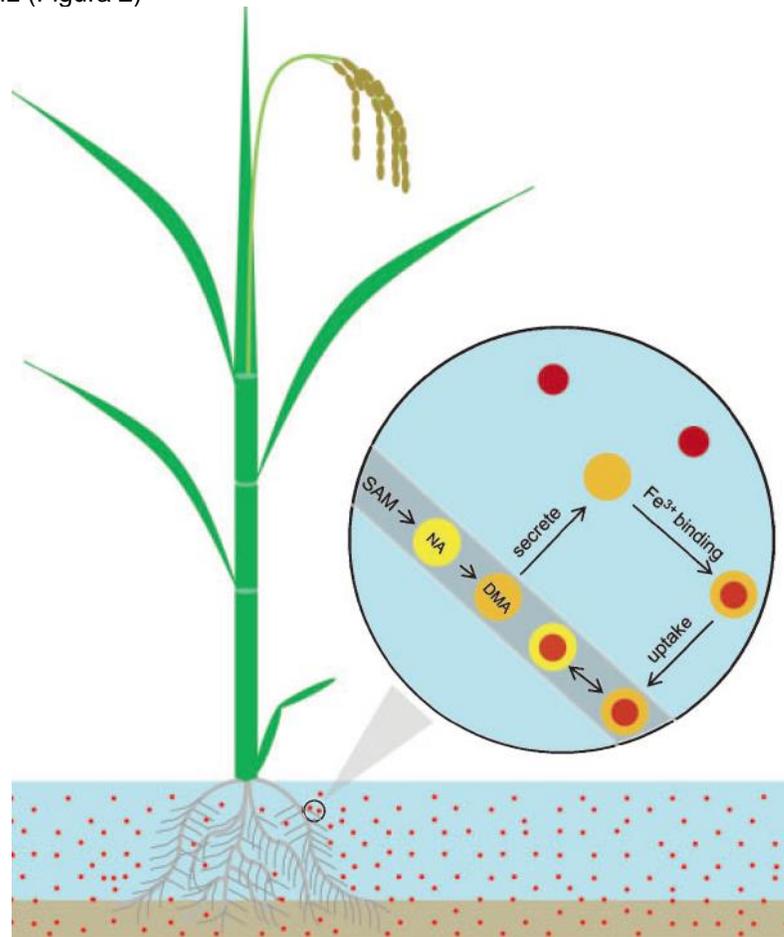
No hay evidencias de cambios en las rutas metabólicas por la presencia del transgén o productos. La presencia del transgén sólo sobreexpresa la proteína.

**Mecanismo de acción del gen de interés**

El gen de la sintasa nicotianamina (Nicotianamine synthase, NAS) juega un papel importante en el transporte y removilización de nutrientes (cationes), tales como hierro, zinc, níquel, manganeso y cobre, en los tejidos vegetales.

**El gen de interés NAS (Nicotianamine synthase) cataliza la formación de la nicotianamina (NA), que es precursor del ácido desoximugineico (DMA), a partir de S-adenosilmetionina (SAM).**

Las gramíneas, tales como arroz, trigo y maíz, emplean una estrategia basada en la quelación para absorber Fe férrico de la rizósfera. Las raíces secretan un ácido (ácido desoximugineico, DMA), que solubiliza el Fe férrico ( $Fe^{3+}$ ) en la rizósfera. Entonces, los complejos  $Fe^{3+}$ -DMA pueden ser fácilmente absorbidos por la raíz (Figura 2)

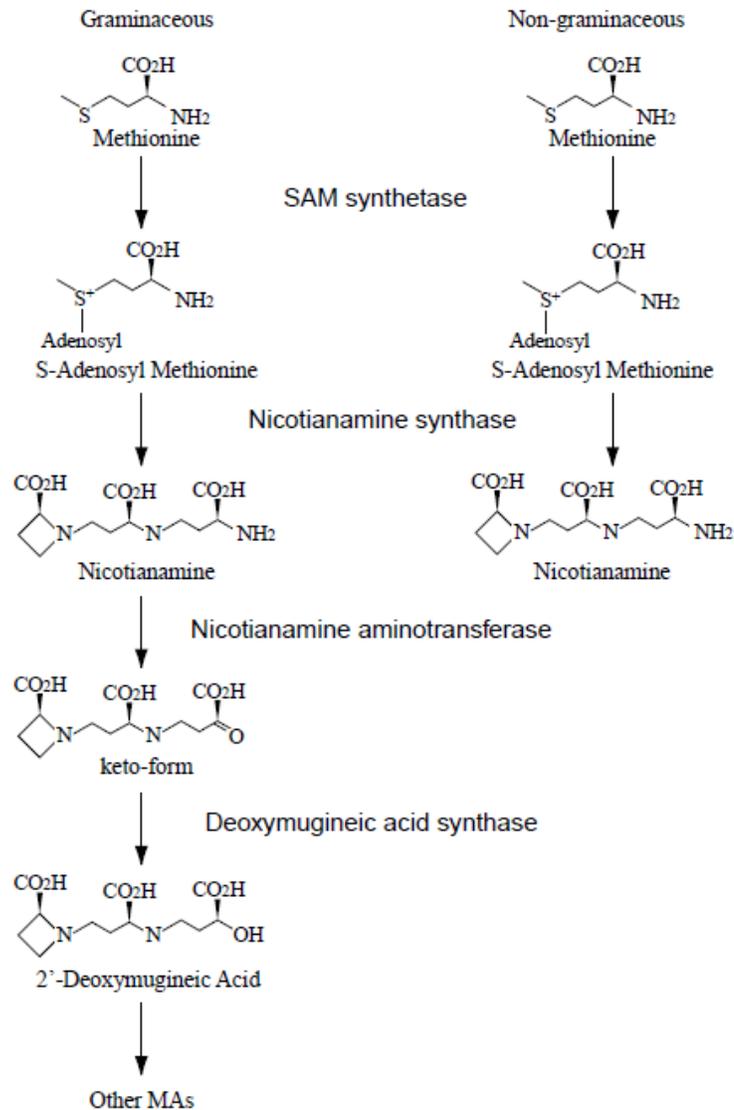


**Figura 2.** Ilustración del proceso para la absorción del hierro. Los círculos rojos representan el hierro en forma férrica ( $Fe^{3+}$ ). Ver Johnson, 2013

Adicionalmente, varias de las líneas Ubi::NAS2 previamente evaluadas, mostraron un aumento del 20-30% en la biomasa vegetativa, debido a un mayor número de macollas. Esto resultó en un aumento en el rendimiento de grano de aproximadamente 20-30%, en comparación con plantas no transformadas.

La ventajas serían evidentes para suelos alcalinos, debido a una mayor absorción de hierro y zinc del suelo y removilización entre los tejidos fuente y sumidero.

Referencias: Inoue *et al.* 2003, Johnson *et al.*, 2011, Johnson, 2013, Lee *et al.* 2012



**Figure XX.** Ruta de síntesis del precursor nicotianamina (NA) y del ácido desoximugineico (DMA). Ver Inoue *et al.* 2003

**I.o) Productos de degradación de la proteína codificada por el transgen en subproductos.**

No se han determinado productos de degradación de la proteína diferentes a los esperados en las rutas metabólicas de organismos no modificados.

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

Información confidencial.

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

#### *Oryza sativa* (Arroz)

Es un cereal, monocotiledónea perteneciente a la familia *Poaceae*, considerado como alimento básico en muchas culturas. El cultivo del arroz comenzó hace casi 10.000 años, en muchas regiones húmedas de Asia tropical y subtropical. Posiblemente sea la India el país donde se cultivó por primera vez, aunque el desarrollo del cultivo tuvo lugar en China. Los suelos inundados ofrecen un ambiente único para el crecimiento y nutrición del arroz.

El arroz es el alimento básico para más de la mitad de la población mundial. Si se considera su importancia como cultivo alimenticio, el arroz proporciona más calorías por hectárea que cualquier otro cultivo de cereales. No posee características de patogenicidad o virulencia, ni potencial como maleza.

#### *Zea mays* (maíz)

Gramínea anual originaria de América e introducida en Europa en el siglo XVI. Actualmente, es el cereal con mayor volumen de producción en el mundo, superando al trigo y el arroz. Es una planta monoica; sus inflorescencias masculinas y femeninas se encuentran en la misma planta. Su rápido crecimiento le permite alcanzar hasta los 2,5 m de altura, con un tallo erguido, rígido y sólido. Cada mazorca consiste en un tronco que está cubierto por filas de granos, la parte comestible de la planta, cuyo número puede variar entre ocho y treinta. El grueso recubrimiento de brácteas de su mazorca, la forma en que los granos se encuentran dispuestos y están sólidamente sujetos, impiden que la planta pueda dispersar sus granos. Diferentes grados de dormancia se han observado en distintas variedades o híbridos.

#### *Escherichia coli*

Los miembros de este género son habitantes del tracto intestinal de los humanos y animales de sangre caliente. Esta bacteria es ampliamente utilizada en los procesos de biotecnología y transformación y microbiología industrial.

#### *Agrobacterium tumefaciens*- Agrobacteria

Son bacterias aeróbicas en forma de bacilos, gram-negativas, flageladas, peritricas; forma colonias mucoides y blancas. La composición de bases de DNA varía de 58 a 63.5% GC. Esta bacteria ataca los tejidos de las plantas causando tumores. El tumor corresponde con la presencia de un plásmido que induce tumores (plásmido Ti). 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. 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 ADN-transferible (ADN-T), del plásmido circular Ti (inducción de tumor) de 150 a 250 kB, transferido por *A. tumefaciens* dentro del genoma de la planta hospedante.

Cuando *Agrobacterium* es aislada de las raíces de las plantas en ambientes naturales o bajo cultivo, la mayoría de las cepas (más del 90%) no son patogénicas, aun cuando muchos aislamientos son hechos de plantas enfermas. Por lo tanto, *Agrobacterium* es esencialmente un habitante de la rizosfera y únicamente una proporción muy pequeña de cepas son fitopatógenas (contienen el plásmido Ti), las cuales causan la enfermedad conocida como agalla de la corona en un amplio rango de plantas dicotiledóneas especialmente rosáceas como manzana, pera, durazno, cereza, almendra, frambuesa y rosál. Esta enfermedad se caracteriza por la formación de un tumor al nivel del suelo y aunque reduce el valor comercial de la cosecha, generalmente no causa problemas serios en plantas maduras bien establecidas. La bacteria entra a la planta a través de heridas y transfiere una fracción de su DNA, denominada DNA-T, a las células de las plantas causando la formación de un tumor. El tumor se desarrolla debido a que el DNA-T contiene genes que regulan la biosíntesis de hormonas vegetales como el ácido indolacético y citocininas. Las células infectadas producen unas sustancias denominadas opinas, las cuales son usadas por la

bacteria como fuente de energía. El desarrollo de los síntomas en la planta infectada depende de la temperatura, humedad y estado de crecimiento; conforme el tumor incrementa su tamaño la habilidad de la planta para obtener nutrientes disminuye y finalmente detienen su crecimiento con lo cual también empieza la decadencia del tumor liberando las bacterias en el suelo. La bacteria puede permanecer activa en el suelo o en tumores viejos en ausencia de un hospedero adecuado durante un mínimo de dos años y puede dispersarse a través del movimiento de suelo infectado, implementos agrícolas, escurrimiento de agua o a través de insectos succionadores de savia.

Algunas bacterias encontradas en el suelo como las especies fitopatógenas del género *Agrobacterium* pueden transferir DNA a las plantas a través del mecanismo denominado transformación. Existen otros dos mecanismos, conjugación (intercambio de plásmido entre bacterias compatibles) y transducción (transferencia viral de DNA dentro de una bacteria), los cuales son altamente específicos y no tienen un potencial relevante para la transferencia de DNA. En general la habilidad de las bacterias para aceptar DNA del ambiente varía marcadamente entre las diferentes especies y la frecuencia de transformación, aún bajo condiciones ideales, es muy baja.

*Fuente de esta descripción: Solicitud de Permiso para Liberación Experimental al Ambiente del Organismo Genéticamente Modificado Algodón Solución FAENA FLEX® (MON-88913-8) en el campo experimental INIFAP, Tecoman, Colima durante el Ciclo Agrícola Otoño- Invierno (OI) 2008/2009; presentada por Sagarpa como modelo (<http://148.243.71.63/default.asp?doc=1419>).*

#### *Virus del mosaico de la coliflor*

Es un pararetrovirus de las plantas crucíferas (col, brócoli, coliflor y otras), que causa aclaramientos o clorosis en las hojas. El genoma es una doble cadena de ADN circular de 8-kbp. El promotor de su ADN ribosómico 35S es activo constitutivamente en la mayoría de los tejidos de las plantas, por lo que ha sido muy utilizado como promotor en muchos cultivos transgénicos. El 35S es uno de los promotores más comúnmente usados en cultivos genéticamente modificados y no han sido reportados efectos negativos relativos a la patogenicidad o virulencia de estas secuencias.

#### **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 éstos genes**

El marcador de selección es el gen HPT de resistencia al antibiótico, proveniente de *Escherichia coli*.

El HPT (Hygromycin resistance gene) codifica hygromycin phosphotransferasa. Esta proteína codificada por este gen inactiva el antibiótico higromicina B.

Cada gen fue puesto bajo el control del promotor constitutivo ubiquitina (ubi) de maíz.

El antibiótico es utilizado como un agente de selección para aislar los eventos que han tomado el plásmido de interés, es decir, los eventos positivos a la transformación. Estos genes de resistencia a antibióticos son comúnmente usados como agentes de selección en los métodos de transformación.

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

Se considera a estos eventos como estables, siendo la siembra de los mismos aprobada con anterioridad en ensayos de campo en Australia. Ver Análisis de Riesgos y Manejo para la solicitud DIR 128.

#### **I.t) Referencia bibliográfica sobre los datos presentados**

Ver al final de este documento

## **II. Identificación de la zona o zonas donde se pretenda liberar el OGM**

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

Área máxima para trigos NAS2= 0.15 Ha

Área máxima para el ensayo total= 1 Ha

Se propone incluir en el mismo ensayo experimental eventos transformados con diferentes combinaciones de genes y promotores, así como variedades de trigo convencional a utilizar como referencia control. Dado que cada combinación requiere un permiso de siembra independiente, el diseño de siembra, área a sembrar, y cantidad exacta de semilla a movilizar estará en función de la cantidad de eventos que reciban la aprobación para ser incluidos en el ensayo.

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

Se designa como polígono el total del lote asignado a cultivos de transgénicos dentro de la Estación Experimental. El área exacta dentro de este lote asignada a esta siembra se determinará previo a la misma.



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

El polígono donde se realizará la liberación del trigo transgénico se encuentra dentro de la Estación Experimental del CIMMYT. El acceso a la estación se encuentra restringido y con vigilancia. El perímetro de la estación se encuentra cercado. Los lotes vecinos al área experimental son generalmente utilizados para el cultivo de maíz.

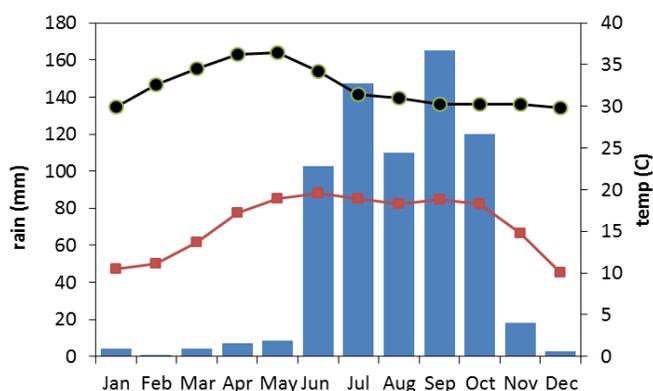
#### **II.c.1) Listado de especies sexualmente compatibles y de las especies que tengan interacción en el área de liberación y en zonas vecinas a éstos**

No se han observado especies silvestres de trigo (*Triticum*) o emparentadas (*Aegilops*) en el área correspondiente al ensayo y zona aledaña. Se establecerán medidas de control para garantizar que no habrá especies sexualmente compatibles con el trigo -ajenas al ensayo- en el área correspondiente al ensayo y zonas vecinas (ver medidas de seguridad a implementar).

#### **II.c.2) Descripción geográfica**

El ensayo se realizará en los predios de CIMMYT de la Estación Experimental.

El clima que predomina en el Estado de Morelos es el cálido subhúmedo (87 % de la superficie del estado, y zona de estudio). Las lluvias se presentan durante el verano en los meses de junio a octubre, siendo la precipitación media para el estado de alrededor de 900 mm anuales. Se presenta en la Figura 3 los datos de precipitaciones y temperatura para la Estación Experimental. Dado las bajas precipitaciones para el ciclo OIP, las siembras se realizan con riegos complementarios.



**Figura 3.** Precipitaciones mensuales (barras azules, eje izquierdo en mm) y temperatura máxima (línea verde, eje derecho en °C) y temperatura mínima (línea roja, eje derecho en °C) para la Estación Experimental.

El municipio se localiza en la subregión de Jojutla y se ubica geográficamente entre los paralelos 18° 41´ de latitud norte y los 99° 41´ de longitud oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 940 metros sobre el nivel del mar. Tiene una superficie de 236.75 kilómetros cuadrados, cifra que representa de 4.77 % del total del Estado. Limita al norte con Yautepec; al sur con Tlaquiltenango; al este con Ayala; al oeste con Puente de Ixtla y Xochitepec; al noreste con Emiliano Zapata y al suroeste con Zacatepec.

La flora está compuesta por tepehuaje, palo dulce, copal, cuahulote, cubata, guamuchil, ciruelo, cuachalalate, mezquite, brasil, guayabillo, guaje, bonete, casahuate, pega hueso, quina, etc. La fauna está compuesta por tejón, zorrillo, armadillo, aguililla, paloma ala blanca, víbora de cascabel, codorniz, conejo común, coyote, escorpión, gavián, huilota, iguana, tlacuache, chachalaca, urraca copetona, zopilote, venado, etc.

**II.c.3 Plano de ubicación señalando las principales vías de comunicación**



**III. Estudio de los posibles riesgos que la liberación de los OGMs pudiera generar al medio ambiente y a la diversidad biológica a los que se refiere el artículo 42, fracción III, de la Ley. Contendrá, además de lo dispuesto en el artículo 62 de la Ley, la información siguiente:**

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

Se considera a estos eventos como estables, según detalles proporcionados para la siembra de los mismos en ensayos de campo en Australia. Ver Anexo 01 correspondiente a las siembras realizadas en Australia, (Análisis de Riesgos y Manejo para la solicitud DIR 128).

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

Los análisis de expresión confirmaron la sobre-expresión en eventos transformados, al compararse con eventos nulos. Se ha demostrado también una ventaja fenotípica en las plantas transgénicas, lo cual sería un indicador de la expresión del gen de interés insertado, así como de la ventaja de la transformación. Los estudios realizados demostraron que las líneas de trigo transformadas con el gen Ubi:NAS2 (OX) tuvieron un mayor número de macollas (tallos, biomasa vegetativa), así como un mayor rendimiento de grano, al compararse con el control no transformado (wild type, WT).

Los análisis de expresión presentados se realizaron utilizando cADN proveniente de tejido de hojas de diez plantas diferentes.

**III.c) Características del fenotipo del OGM**

Las plantas transformadas tendrían mejor potencial de rendimiento que las plantas no transformadas. Sin embargo, la correcta evaluación de la respuesta de las plantas debe realizarse en condiciones de campo, ya que en estas condiciones es en donde la planta mejor expresa su potencial de respuesta.

Las líneas de trigo transgénico descritas en esta solicitud difieren del trigo no transformado sólo por la presencia del transgén. La apariencia de las plantas que contienen estos genes no es distinta de la de las plantas de trigo convencionales. Las evaluaciones realizadas en invernadero han demostrado que las plantas transformadas no difieren en sus características fenotípicas básicas del trigo convencional, siendo el ciclo biológico y morfología similar entre plantas transformadas y trigos convencionales. Estos materiales no son algo anormal, la única diferencia con trigos convencionales es en el nivel de expresión o en el momento de expresión de los productos que normalmente regula el gen. El riesgo por la transformación con el gen NAS2 no debería ser mayor que el riesgo que poseen las variedades de trigo convencional.

La condición de resistencia a antibióticos está sólo relacionada al proceso de transformación, y no implica prácticas agronómicas o tratamientos diferenciales en condiciones de campo. Es decir, el gene de resistencia al antibiótico ha sido introducido únicamente como marcador de selección y no para propósitos agronómicos.

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

No se observaron características físicas o fenotípicas relacionadas con el OGM que pueda tener efectos adversos sobre la diversidad biológica y en el medio ambiente.

Las líneas que se utilizarán en este ensayo no han mostrado evidencia de efectos secundarios negativos, en los estudios realizados hasta el momento.

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

Las evaluaciones realizadas en invernadero han demostrado que las plantas transformadas no difieren en sus características fenotípicas básicas del trigo convencional, siendo el ciclo biológico y morfología similar entre plantas transformadas y trigos convencionales.

Los genes introducidos no inducen efectos fenotipos fuera de lo esperado, ni reducen la viabilidad. Algunas de las líneas pudieran presentar una pequeña demora en la floración (retraso en el día de floración), aunque este efecto deberá evaluarse en las condiciones de campo y bajo las condiciones ambientales que se propone en esta evaluación. Sin embargo, no se reportan alteraciones en la morfología o fisiología floral, obteniéndose granos/semillas viables de igual manera que en eventos convencionales.

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

En las experiencias realizadas en invernadero no se observaron efectos relacionadas con el OGM que pueda tener efectos adversos sobre la diversidad biológica y en el medio ambiente. El gen *NAS2* ocurre naturalmente en muchas especies vegetales. Además, ningún producto resultante de estos ensayos experimentales será utilizado para consumo humano o animal.

El gen de selección utilizado es de resistencia al antibiótico Higromicina. Este gen marcador ha sido utilizado en numerosos cultivos transgénicos, sin demostrarse efectos adversos al medio ambiente.

### **III.g) Descripción de uno o más métodos de identificación del evento específico del OGM, incluyendo niveles de sensibilidad y reproducibilidad, con la manifestación expresa del promovente de que los métodos de identificación son los reconocidos por el desarrollador del OGM para la detección del mismo**

El evento específico puede identificarse por análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La secuencia marcadora (primer) es específica para el T-ADN introducido y no amplifica genes endógenos. El nivel de confiabilidad y reproducibilidad del método es alto, basado en los resultados obtenidos en los laboratorios de la institución proveedora del transgén.

Las marcas comerciales utilizadas se indican en los protocolos. La disponibilidad de adquisición es alta, el contacto con los proveedores es rápido. Toda la información sobre los productos, costos, y proveedores es de público acceso en Internet.

El costo por reacción varía entre USD 5 -10, dependiendo de la cantidad de muestras, costo de personal y equipos a utilizar.

Actualmente no existen marcadores visuales que permitan la identificación de estos organismos genéticamente modificados en el campo.

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

El riesgo de flujo génico es muy bajo dado las características reproductivas del trigo (Análisis de Riesgos y Manejo para la solicitud DIR 128, Australia) y el estricto control en el área experimental. Sin embargo, si ocurriera hibridación natural, hay tres dificultades para los híbridos resultantes de trigo y especies relacionadas: i) la incompatibilidad entre padres, ii) la baja viabilidad en la F1 (primera generación), y iii) la esterilidad de la F1 o su descendencia.

### **III.i) Bibliografía reciente de referencia a los datos presentados**

Ver al final de este documento

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

##### **IV.a) Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad**

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

**Informes:** se informará a las autoridades del Comité de Bioseguridad de CIMMYT y a las autoridades de los organismos de control correspondientes sobre toda práctica de manejo a realizar en el ensayo, previo a la siembra, durante el ciclo del cultivo y posterior a la cosecha. Dichas autoridades tendrán autorización para efectuar controles programados u observar las parcelas sin previo aviso.

El plan de actividades a realizar será detallado en una bitácora donde se llevará el registro escrito de los trabajos de campo. Esta bitácora incluirá todos los sucesos que tuvieron lugar durante la realización de las tareas de campo, las fechas de los eventos, las fallas que se produjeron, los cambios que se introdujeron al plan original de trabajo y los costos que ocasionaron. La bitácora estará disponible para el control por parte de las autoridades.

###### **- Plan de monitoreo anterior a la siembra**

Consistirá en la observación, documentación y destrucción de toda planta de trigo o especie relacionada con el trigo observada en la zona experimental y zona aledaña dentro de la Estación Experimental de Tlaltizapán durante la preparación del terreno previo a la siembra.

###### **- Plan de monitoreo durante el ciclo de cultivo**

Consistirá en la observación, documentación, y destrucción de toda planta de trigo o especie relacionada con el trigo observada en la zona experimental y zona aledaña dentro de la Estación Experimental de Tlaltizapán y no relacionada al ensayo propuesto. La destrucción de estas plantas se realizará según los protocolos de destrucción de plantas transgénicas.

###### **- Plan de monitoreo finalizado el ciclo de cultivo**

Consistirá en la observación, documentación, y destrucción de toda planta de trigo o especie relacionada con el trigo creciendo como voluntaria en la zona experimental, por un periodo de 2 ciclos agrícolas posteriores a los ensayos experimentales con trigos transgénicos.

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

El ensayo se realizará en condiciones controladas, por lo cual se procederá a un estricto control de malezas y no habrá especies silvestres de trigo en el área correspondiente al ensayo.

Plan de monitoreo durante el ciclo de cultivo: Consistirá en la observación, documentación, y destrucción de toda planta de trigo o especie relacionada con el trigo observada en la zona experimental y zona aledaña dentro de la Estación Experimental y no relacionada al ensayo propuesto.

Plan de monitoreo finalizado el ciclo de cultivo: Consistirá en la observación, documentación, y destrucción de toda planta de trigo o especie relacionada con el trigo creciendo como voluntaria en la zona experimental, por un periodo de 2 ciclos agrícolas posteriores a los ensayos experimentales con trigos transgénicos. La destrucción de estas plantas se realizará según los protocolos de destrucción de plantas transgénicas descritos.

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

Como medida de control, será destruido todo trigo que emergiera como voluntario, por un periodo de dos ciclos agrícolas posteriores a la liberación del trigo transgénico.

El comité de Bioseguridad de CIMMYT establece controles rutinarios para evitar la contaminación con transgénicos. Dichos controles se ejercerán en toda la Estación Experimental.

Ver además otras medidas de seguridad detalladas en este documento.

#### **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**

###### **Traslado de material transgénico según protocolos ETS.**

Empaque de semilla: Las semillas se colocarán en sobres de papel muy resistentes a las roturas. Dichos sobres se dispondrán en cajas de cartón selladas, y todo el paquete será colocado dentro de bolsas de plástico especial para el traslado de material transgénico, la cual se sella a fin de garantizar su traslado seguro. Estas bolsas son lo suficientemente fuertes para impedir la salida de la semilla.

**Etiquetado de sobres y cajas según protocolos ETS y regulaciones mexicanas** (Artículo 4. de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SAG/BIO-2014, referente a las especificaciones generales de etiquetado de organismos genéticamente modificados que sean semillas o material vegetativo destinados a siembra, cultivo y producción agrícola. DOF: 28/05/2014).

###### Características generales del etiquetado

- La información que se presente en las etiquetas será veraz, objetiva, y se presentará de forma tal que no induzca a error al o los usuarios con respecto a la naturaleza y características del OGM. Asimismo, el lenguaje empleado será claro y sencillo, no utilizándose ideas y/o frases que tiendan a la posible ampliación o exageración de las cualidades o capacidades reales o que induzcan al mal uso.
- La descripción del contenido de la etiqueta, será claramente visible y fácilmente legible a simple vista.
- La información estará en idioma español, pudiendo también presentarse en inglés de ser requerido para evitar errores.
- La etiqueta estará fijada al envase, de manera tal que permanezca disponible.
- La etiqueta además cumplirá con lo dispuesto por otras normas vigentes (NOM-002-SCFI-1993, NOM-008- SCFI-2002, NOM-030-SCFI-2006).
- La información obligatoria aparecerá en el envase múltiple (caja) y también en todos y cada uno de los envases (sobres) individuales.
- La etiqueta contendrá información sobre:
  - La identificación de que se trata de un OGM, incluyendo la frase "SEMILLA GENÉTICAMENTE MODIFICADA", de lectura a simple vista.
  - La combinación genética adquirida, atributos que confieren, y cambios esperados.
  - El identificador del evento.
  - Las condiciones especiales y detalles de siembra, según el diseño experimental y detalles específicos.
  - El contenido neto en gramos de semilla.

- El nombre del cultivo (trigo harinero), género y especie (*Triticum aestivum*), y variedad (Bobwhite).
- Nombre del responsable, domicilio y teléfono.
- Número del lote que permita dar seguimiento o rastreo

El empaque o envase, asimismo, indicará las advertencias de restricciones a su uso, incluyendo las leyendas bajo el título "PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS DE BIOSEGURIDAD":

- "ESTA SEMILLA GENÉTICAMENTE MODIFICADA NO DEBE SEMBRARSE, CULTIVARSE O PRODUCIRSE FUERA DE LAS ZONAS AUTORIZADAS PARA SU LIBERACIÓN"
- "EL USO DE ESTA SEMILLA GENÉTICAMENTE MODIFICADA IMPLICA CUMPLIR LAS MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD Y CONDICIONANTES CONTENIDAS EN EL PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE";
- "ESTA SEMILLA NO ESTÁ DESTINADA PARA CONSUMO"
- "EN CASO DE LIBERACIÓN ACCIDENTAL, REPÓRTELO A: libaccidentalogm.dgiaap@senasica.gob.mx", incluyendo también los datos de acceso postal, telefónico e informático de la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera del SENASICA.

**Guías de traslado según protocolos ETS.** Se confeccionarán guías conteniendo el inventario de la semilla a trasladar, número de sobres e identificación de los mismos, lugar de salida y de destino final, y persona responsable por los mismos. Una copia permanecerá en el sitio de salida, otra copia será trasladada con el material, y una tercera copia será el documento de control de la autoridad que reciba el material.

#### **Recepción del material y almacenamiento en el sitio de llegada.**

Previo a la siembra, una autoridad de bioseguridad controlará el arribo del material a la Estación Experimental, asegurándose de que toda la semilla coincida con lo declarado en la guía de transporte. Toda anomalía será reportada a la autoridad competente. La semilla será guardada bajo llave hasta el momento de la siembra.

Luego de la cosecha, una autoridad de bioseguridad controlará el arribo del material al Laboratorio de Bioseguridad del CIMMYT, Estado de México, asegurándose de que coincida con lo declarado en la guía de transporte. Toda anomalía será reportada a la autoridad competente. La semilla será almacenada en la zona de bioseguridad destinada a tal fin.

**Medidas en caso de accidente.** En caso de accidente durante el transporte se procederá a la recolección manual del material o quema del mismo en el lugar del accidente si no fuera posible su total recolección. Inmediato al accidente se informará a las autoridades de Bioseguridad de CIMMYT y de los organismos de control según se detalla en el permiso de siembra. La zona del accidente será identificada y monitoreada por la presencia de trigos transgénicos.

**Controles en la siembra.** Los sobres serán abiertos sólo cuando se encuentren seguros, previo a la siembra. Toda la semilla que no se siembre y se desee conservar se volverá a empaquetar en sobres, que se dispondrán en cajas y luego en la bolsa para el traslado de transgénicos. Se identificarán los sobres, cajas y bolsas según lo descrito. Dicho material se regresará al Laboratorio de Biotecnología del CIMMYT, según el protocolo de traslado descrito. Si el material excedente no se desea conservar, se destruirá, en la parcela experimental. Los sobres, cajas y bolsas vacías que no sea necesario conservar también se destruirán dentro del área experimental. Un funcionario de bioseguridad estará presente para asegurar el cumplimiento de protocolos.

#### **Aislamiento del ensayo:**

- Se sembrará una barrera de cultivo convencional (por ejemplo, trigo duro o cebada) sobre los lados del perímetro sembrado con transgénicos.
- Se sembrará una segunda barrera, de maíz convencional (no modificado genéticamente) sobre los lados del perímetro sembrado con transgénicos.
- Se dejará sin sembrar (suelo arado) un área perimetral de 10 m alrededor del ensayo.
- Se mantendrá un área de aislamiento de 100 m libre de especies sexualmente compatibles con trigo; en concordancia con documentos presentados por USDA (Estados Unidos), Comunidad Europea, Canadá y Australia (ver anexos; véase también Waines y Hegde, 2003).
- Habrá un estricto control de plagas y malezas en el área del ensayo.
- Si bien el polen de trigo no es dispersado por agentes vectores (ver documento de soporte "The Biology of Triticum aestivum L. em Thell. –Bread Wheat), la presencia de animales pequeños como ratones será controlada. Durante la época en que los granos pudieran atraer a los pájaros se tomarán medidas de control como la cobertura con mallas para limitar el acceso de las aves.
- El personal utilizará ropa especial dentro del área experimental, según los protocolos ETS.
- Luego de la cosecha, toda el área será irrigada para favorecer la germinación de semillas que puedan haber caído en forma natural. Las plantas de trigo voluntarias que emergieran serán destruidas.
- El área experimental estará cercada e identificada con letreros que indiquen la siembra de productos transgénicos y que éstos no son utilizados para el consumo humano o animal.
- La Estación Experimental del CIMMYT se encuentra cercada y con seguridad permanente las 24h.

**Destrucción de materiales de cosecha.** Un funcionario de bioseguridad del CIMMYT y autoridades de los organismos de control estarán presente durante la cosecha con el fin de asegurarse de que toda la semilla o espigas se preparen en la forma requerida para el traslado según los protocolos ETS, que contempla el correcto etiquetado, empaque, inventario y control de salida y llegada del material. Estas semillas o espigas se enviarán al Laboratorio de Bioseguridad en la sede del CIMMYT, según el protocolo de traslado terrestre. Ya en la institución, todo el material acompañante será esterilizado utilizándose una autoclave disponible en el área de bioseguridad. La semilla será almacenada en la zona de bioseguridad destinada a tal fin. En caso de accidente durante el transporte se procederá a la recolección manual del material o quema del mismo en el lugar del accidente si no fuera posible su total recolección. Inmediato al accidente se informará a las autoridades de Bioseguridad de CIMMYT y de los organismos de control fitosanitario. La zona del accidente será identificada y monitoreada por la presencia de trigos transgénicos. Los materiales que no sea necesario conservar se destruirán dentro del área experimental.

#### **Seguridad:**

- Sólo el personal autorizado tendrá acceso. El CIMMYT cuenta con seguridad las 24 h.
- El perímetro de la Estación Experimental se encuentra cercado.

**Programa de capacitación del personal involucrado.** Sólo el personal autorizado y capacitado participará en la toma de datos y manejo del cultivo. El personal recibirá las instrucciones y normas de manejo por escrito y también se le explicará en forma oral sobre las medidas de seguridad que rigen este ensayo. Es decir, todo el personal que trabaje en este ensayo recibirá la capacitación necesaria para comprender las normas de seguridad e importancia de las mismas y comprometerse a su cumplimiento.

#### **Verificación de las medidas de bioseguridad.**

- Interna. Se implementará un sistema de autocontrol en todo el personal involucrado en las tareas de campo, mediante la capacitación y toma de conciencia del material sembrado.
- Externa. Habrá un doble control externo ejercido por autoridades del Comité de Bioseguridad del CIMMYT y por lo las autoridades de los organismos fitosanitarios de control.

#### **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**

El CIMMYT cuenta con seguridad las 24 h del día para impedir el acceso de toda persona no autorizada a sus instalaciones. El perímetro de la Estación Experimental se encuentra cercado. Sólo el personal autorizado tendrá acceso. Todo el personal que trabaje en este ensayo recibirá la capacitación necesaria para comprender las normas de seguridad e importancia de las mismas y comprometerse a su cumplimiento.

Si bien el polen de trigo no es dispersado por agentes vectores (ver documento de soporte “The Biology of *Triticum aestivum* L. em Thell. –Bread Wheat), la presencia de animales pequeños como ratones será controlada con cebos tóxicos. Durante la época en que los granos pudieran atraer a los pájaros se tomarán medidas de control como la cobertura con redes para limitar el acceso de las aves,

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

Consistirá en la observación, documentación, y destrucción de toda planta de trigo o especie relacionada con el trigo creciendo como voluntaria, por un periodo de 2 ciclos agrícolas posteriores a los ensayos experimentales con trigos transgénicos. El comité de Bioseguridad de CIMMYT establece controles rutinarios para evitar la contaminación con transgénicos en sus áreas experimentales.

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

- Se sembrará una barrera de cultivo convencional (por ejemplo, trigo duro o cebada) sobre los lados del perímetro sembrado con transgénicos.
- Se sembrará una segunda barrera, de maíz convencional (no modificado genéticamente) sobre los lados del perímetro sembrado con transgénicos.
- Se dejará sin sembrar (suelo arado) un área perimetral de 10 m alrededor del ensayo.
- Se mantendrá un área de aislamiento de 100 m libre de especies sexualmente compatibles con trigo; en concordancia con documentos presentados por USDA (Estados Unidos), Comunidad Europea, Canadá y Australia (ver Anexo 1; véase también Waines y Hegde, 2003).
- Habrá un estricto control de plagas y malezas en el área del ensayo.
- Si bien el polen de trigo no es dispersado por agentes vectores (ver documento de soporte “The Biology of *Triticum aestivum* L. em Thell. –Bread Wheat), la presencia de animales pequeños como ratones será controlada. Durante la época en que los granos pudieran atraer a los pájaros se tomarán medidas de control como la cobertura con mallas para limitar el acceso de las aves.
- El personal utilizará ropa especial dentro del área experimental, según los protocolos ETS.
- Luego de la de la cosecha, toda el área será irrigada para favorecer la germinación de semillas que puedan haber caído en forma natural. Las plantas de trigo voluntarias que emergieran serán destruidas.
- El área experimental estará cercada e identificada con letreros que indiquen la siembra de productos transgénicos y que éstos no son utilizados para el consumo humano o animal.

- La Estación Experimental del CIMMYT se encuentra cercada y con seguridad permanente las 24h.

#### **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**

Una posible liberación accidental no ocasionaría riesgos a la salud humana o ambiental. El gen *NAS2* ocurre naturalmente en muchas especies vegetales. Por ello, estos materiales no son algo anormal, la única diferencia con trigos convencionales es en el nivel de expresión o en el momento de expresión de los productos que normalmente regula el gen.

Estudios recientes no encontraron efectos negativos en larvas de insectos y áfidos que fueran alimentados con trigos genéticamente modificados (Peter *et al.*, 2010; von Burg *et al.*, 2010). Los estudios con larvas de moscas se llevaron a cabo por científicos del Instituto de Ecología y Evolución de la Universidad de Bern, Suiza. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de trigos transgénicos sobre las larvas de moscas que descomponen residuos en el suelo, y por lo tanto, asociadas a la fertilidad del suelo. En este estudio se alimentaron larvas de moscas de dos especies con hojas de seis diferentes trigos genéticamente modificados. Otro grupo de larvas se alimentó con trigos convencionales, con fines comparativos. Luego se observó el desarrollo y reproducción de las moscas que emergieron de estas larvas, por un periodo de cuatro generaciones para ver si ocurrían efectos a largo plazo. La dieta no tuvo efectos sobre estos individuos en ninguno de los casos. Un enfoque similar fue realizado en el Instituto de Biología Evolutiva y Ciencias Ambientales de la Universidad de Zurich, Suiza, donde treinta colonias de áfidos fueron alimentadas con ocho trigos, cuatro de los cuales eran genéticamente modificados. Se registró la mortalidad, peso y fertilidad de los áfidos. Nuevamente, no se observaron efectos debidos a la ingesta de trigos genéticamente modificados.

Para la solicitud de permiso de siembra de estos eventos en Australia, se realizó una búsqueda exhaustiva en la literatura científica, no encontrándose información que sugiera que el transgén, sus productos protéicos, o cualquiera de los productos asociados fueran tóxicos o alergénicas para los humanos, o tóxicos para otros organismos. Sin embargo, no se han realizado pruebas de toxicidad o alergenicidad.

La expresión del gen *NAS2* en el trigo incrementaría el nivel de hierro en la planta. El trigo, que normalmente tiene ~30 ppm de hierro, podría llegar a ~50 ppm. Este ion desempeña numerosas funciones en el cuerpo, siendo un importante componente del grupo hemo en proteínas tales como hemoglobina, el citocromo C y la catalasa. Es por lo tanto esencial para el transporte de oxígeno a las células, la fosforilación oxidativa, y la descomposición del peróxido de hidrógeno, respectivamente. El exceso de hierro en la dieta podría conducir a efectos perjudiciales, sin embargo, los valores esperados en los productos de estos eventos transgénicos no presentan estos riesgos – y además este trigo no está considerado para consumo.

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

- **Cosecha de materiales:** Las biomásas cosechadas (cortes de tallos y hojas) se trasladarán en bolsas cerradas e identificadas, se procesarán, y secarán completamente en estufa a 75C dentro de la Estación Experimental del CIMMYT. Estas muestras no contendrán espigas maduras o semillas, las cuales serán separadas de las plantas al momento del muestreo.

- **Semillas o espigas de plantas transgénicas cosechadas** Un funcionario de bioseguridad del CIMMYT y autoridades de los organismos fitosanitarios de control estarán presente durante la cosecha con el fin de asegurarse de que toda la semilla o espigas se prepare en la forma descrita para el traslado, que contempla el correcto etiquetado, empaque, inventario y control de salida y llegada del material. Estas semillas o espigas se enviarán al Laboratorio de Bioseguridad en la sede del CIMMYT, según el protocolo de traslado terrestre descrito. Ya en la institución, todo el material acompañante será esterilizado utilizándose una autoclave disponible en el área de bioseguridad. La semilla será almacenada en la zona de bioseguridad destinada a tal fin.

En caso de accidente durante el transporte se procederá a la recolección manual del material o quema del mismo en el lugar del accidente si no fuera posible su total recolección. Inmediato al accidente se informará a las autoridades de Bioseguridad de CIMMYT y de los organismos fitosanitarios de control. La zona del accidente será identificada y monitoreada por la presencia de trigos transgénicos.

Se procederá a la destrucción de todo material que no se utilice para posteriores siembras o para análisis, en el mismo lote donde se sembró el ensayo.

Si existieran materiales que fuera necesario conservar para posteriores experimentos se procederá a la esterilización de los mismos mediante autoclave ubicada en las instalaciones del CIMMYT.

**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.**

Liberaciones al ambiente (siembras en campo) de estos eventos transformados de trigos NAS2 se realizaron en campos de:

- 1- South Australia Glenthorne. Este sitio llamado “Glenthorne farm”, se localiza cercano a la Universidad de Adelaide- Waite Campus, O’Halloran Hill, Australia.



- 2- Western Australia Katanning: ambiente de altas precipitaciones, donde normalmente se cultiva trigo, en el Oeste de Australia. El suelo es mayormente alcalino y sódico.



- 3- Western Australia Merridin: ambiente donde se cultiva trigo, con bajos niveles de precipitación. El sub-suelo es calcáreo.



#### **V.b) Efectos de la liberación sobre la flora y la fauna**

No se han reportado efectos adversos sobre la flora o la fauna como consecuencia de estas siembras con eventos NAS2 en Australia. El análisis de riesgo completo se presenta como Anexo 1 y Anexo 3.

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

El análisis de riesgo se presenta como material anexo.

**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, así como las consideraciones socioeconómicas que existan respecto de la liberación de OGMs al ambiente. Estos análisis deberán estar sustentados en evidencias científicas y técnicas, en los antecedentes sobre uso, producción y consumo, y podrán ser considerados por las Secretarías competentes como elementos adicionales para decidir sobre la liberación experimental al ambiente, y consecuentes liberaciones al ambiente en programa piloto y comercial, respectivamente, del OGM de que se trata.**

No aplica

**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, al menos para su liberación experimental, traducida al español. La Secretaría competente, de considerarlo necesario, podrá requerir copia simple de la legislación aplicable vigente en el país de exportación traducida al español.**

Se adjunta el documento original y la copia traducida al español. Anexo 4.

**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.**

No aplica.

**VII. Número de autorización expedida por SALUD cuando el OGM tenga finalidades de salud pública o se destine a la biorremediación. En caso de no contar con la autorización al momento de presentar la solicitud de permiso, el promovente podrá presentarla posteriormente anexa a un escrito libre, en el que se indique el número de autorización**

El trigo transgénico no será utilizado para consumo animal ni humano.

### VIII. La propuesta de vigencia para el permiso y los elementos empleados para determinarla

Se solicita la vigencia del permiso durante una estación de crecimiento del cultivo de trigo.

#### Referencias

- DIR 128 - Full Risk Assessment and Risk Management Plan (RARMP)  
<http://www.health.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/dir128>. Disponible online 09 Jun 2016
- Dubcovsky J., Dvorak J. (2007). Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication. *Science* 316, 5833: 1862-1866.
- Hegde S.G., Waines J.G. (2004). Hybridization and introgression between bread wheat and wild and weedy relatives in North America. *Crop Science* 44: 1145-1155.
- Inoue H., Higuchi K., Takahashi M., Nakanishi H., Mori S., Nishizawa N.K. (2003). Three rice nicotianamine synthase genes, OsNAS1, OsNAS2, and OsNAS3 are expressed in cells involved in long-distance transport of iron and differentially regulated by iron. *Plant Journal*. 36: 366-381.
- Johnson A.A.T. (2013). Enhancing the chelation capacity of rice to maximise iron and zinc concentrations under elevated atmospheric carbon dioxide. *Functional Plant Biology* 40: 101-108.
- Johnson A.A.T., Kyriacou B., Callahan D.L., Carruthers L., Stangoulis J., Lombi E., Tester M. (2011). Constitutive overexpression of the OsNAS gene family reveals single-gene strategies for effective Iron- and Zinc-biofortification of rice endosperm. *Plos One* 6.
- Kovalchuk N., Smith J., Pallotta M., Singh R., Ismagul A., Eliby S., Bazanova N., Milligan A.S., Hrmova M., Langridge P., Lopato S. (2009). Characterization of the wheat endosperm transfer cell-specific protein TaPR60. *Plant Molecular Biology* 71: 81-98.
- Lee S., Kim Y.S., Jeon U.S., Kim Y.K., Schjoerring J.K., An G. (2012). Activation of Rice nicotianamine synthase 2 (OsNAS2) enhances iron availability for biofortification. *Molecular Cells* 33: 269-275.
- Office of the Gene Technology Regulator, Australian Government Office of the Gene Technology Regulator. The Biology of *Triticum aestivum* L. em Thell. (Bread Wheat). <http://www.ogtr.gov.au>  
[http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/wheat-4/\\$FILE/biologywheat08.rtf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/wheat-4/$FILE/biologywheat08.rtf)
- Peter M., Lindfeld A., Nentwig W. (2010). Does GM wheat affect saprophagous *Diptera* species (*Drosophilidae*, *Phoridae*), *Pedobiologia*. In Press, Corrected Proof, Available online 14 January 2010, ISSN 0031-4056, DOI: 10.1016/j.pedobi.2009.12.006.  
[www.sciencedirect.com/science/article/B7CW54Y5BMG21/2/ced216d7f61a3142484387ea8fa2bd36](http://www.sciencedirect.com/science/article/B7CW54Y5BMG21/2/ced216d7f61a3142484387ea8fa2bd36)
- Sanford J.C., Smith F.D., Russell J.A. (1993). Optimizing the biolistic process for different biological applications. *Methods Enzymol.* 217 :483-509.
- Vasil I.K., Vasil V. (1999). Transformation of wheat via particle bombardment. *Method in Molecular Biology*, Hall RD (Ed.) Humana Press Inc., Totowa, NJ. 111:349-358.
- Von Burg S., Müller C.B., Romeis J. (2010). Transgenic disease-resistant wheat does not affect the clonal performance of the aphid *Metolophium dirhodum* Walker. *Basic and Applied Ecology* 11 (3): 257-263, ISSN 1439-1791, <http://dx.doi.org/10.1016/j.baae.2010.02.003>.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1439179110000289>

Waines J.G., Hegde S.G. (2003). Intraspecific gene flow in bread wheat as affected by reproductive biology and pollination ecology of wheat flowers. *Crop Science* 43: 451-463.

Zaharieva M., Monneveux P. (2006). Spontaneous hybridization between bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and its wild relatives in Europe. *Crop Sci.* 46: 512-527.