

PHI MÉXICO SA DE CV INFORMACIÓN NO CONFIDENCIAL

Reporte final de la Liberación Experimental al Ambiente de Maíz Genéticamente Modificado con el Evento

MON-00810-6

Solicitud 094_2010

En la Localidad de Cuauhtémoc, Chihuahua

Para la Protección Contra Algunos Insectos Lepidópteros

Febrero del 2012

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

TABLA DE CONTENIDO

REPORTE DE RESULTADOS CONFORME A LO DISPUESTO EN EL ARTÍCULO 18 DEL RLBOGM PARA EL EVENTO MON-00810-6 DEL PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE CORRESPONDIENTE A LA SOLICITUD 094_2010 PARA EL ESTADO DE CHIHUAHUA
I. Lineamientos del protocolo propuesto para la liberación experimental o en programa piloto
II. Cambios fenotípicos del OGM respecto a su adaptación al área de liberación 4
III. Efectos de los genes de selección y posibles efectos sobre la biodiversidad 4
IV. Caracterización bioquímica y metabólica de todos los productos del gen novedoso con relación a su actividad, productos de degradación o subproductos, productos secundarios y rutas metabólicas
V. Cambios en la capacidad competitiva del OGM en comparación con la contraparte no modificada, incluyendo supervivencia y reproducción, producción de estructuras reproductoras, periodos de latencia y duración del ciclo de vida
VI. Posibles efectos al ambiente y a la diversidad biológica por la liberación del OGM, incluyendo, el protocolo utilizado para establecer estos posibles efectos
VII. Efectos de las prácticas de uso y aprovechamiento
VIII. En su caso, referencia bibliográfica sobre los datos presentados10
PERMISO PARA EVALUAR EL EVENTO MON-00810-6 EN CHIHUAHUA11
INTRODUCCIÓN11
MATERIALES Y METODOS
Localización y características de la parcela
Material Genético
Siembra
Diseño Experimental
Tratamientos
Variables Evaluadas
Análisis estadístico
RESULTADOS Y DISCUSIÓN
Eficacia Biológica
Organismos No Blanco
Rendimiento29

PHI México S.A. de C.V.

Equivalencia Agronómica	30
CONCLUSIONES	
Eficacia Biológica	
Organismos No Blanco	
Equivalencia Agronómica	
BENEFICIOS POTENCIALES	
LITERATURA CITADA	32

REPORTE DE RESULTADOS CONFORME A LO DISPUESTO EN EL ARTÍCULO 18 DEL RLBOGM PARA EL EVENTO MON-00810-6 DEL PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE CORRESPONDIENTE A LA SOLICITUD 094_2010 PARA EL ESTADO DE CHIHUAHUA.

I. Lineamientos del protocolo propuesto para la liberación experimental o en programa piloto

Los lineamientos de los protocolos propuestos en esta evaluación se encuentran en el presente reporte en la página 15 de acuerdo al siguiente orden:

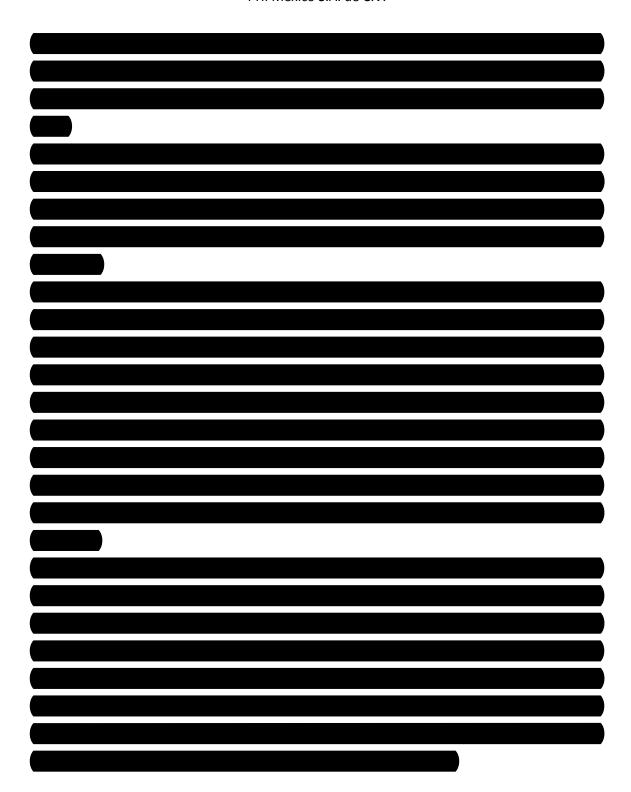
- Eficacia Biológica a partir de la página 15.
- Organismos No Blanco a partir de la página 17.
- Equivalencia Agronómica a partir de la página 17.
- Flujo de Polen en el Anexo I.

II. Cambios fenotípicos del OGM respecto a su adaptación al área de liberación

El estudio sobre los posibles cambios fenotípicos del OGM en el área de liberación se llevó a cabo con el protocolo de equivalencia agronómica. En el presente reporte la equivalencia agronómica fue confirmada y los resultados se presentan a partir de la página 29.

I	II.	Efectos de los genes de selección y posibles efectos sobre la biodiversidad

Página 4 de 33



Se elimina el secreto industrial por tratarse de información confidencial, de conformidad con el artículo 116 de la Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública y 113 fracción II y último párrafo de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.

IV. Caracterización bioquímica y metabólica de todos los productos del gen novedoso con relación a su actividad, productos de degradación o subproductos, productos secundarios y rutas metabólicas

Material de grano de parcelas experimentales en Estados Unidos en 1994 fueron analizadas para proximales (humedad, proteína total, grasa total, calorías, carbohidratos, fibra cruda y cenizas) y 44 constituyentes específicos de maíz (aminoácidos, ácidos grasos, almidón, azucares, calcio, fosforo, tocoferol y acido fitico). En 11 de los compuesto estudiados, los niveles de 8 aminoácidos, la fibra cruda, el calcio y el tocoferol fueron significativamente más altos en el maíz MON810 que en su control convencional (MON818). Sin embargo para 8 de estos compuestos, las concentraciones en maíz MON810 y su control convencional estuvieron dentro de los rangos reportados como normales en la literatura. El nivel de histidina y cistina fueron más altos que los reportados en la literatura en ambos materiales estudiados (maíz MON810 y su control convencional).

Por otro lado los niveles de calcio en ambos materiales estuvieron por debajo de los niveles reportados en la literatura para maíz. Sin embargo, notablemente, los niveles para los 3 compuestos no estuvieron fuera de los resultados reportados que el solicitante ha reportado que pueden ocurrir en la contraparte convencional. Treinta y seis compuestos fueron analizados en los granos colectados en las pruebas experimentales en Francia en 1995 (proximales, aminoácidos y acidos grasos), pero de estas pruebas experimentales también fueron analizados proximales en forraje. En este material fueron observadas diferencias significativas en los niveles constitutivos entre maíz MON810 y su control convencional para 5 compuestos (incremento en humedad de grano y contenido de acido palmítico, niveles reducidos de metionina y triptófano, así como incremento de proteína cruda en forraje).

En base al análisis tanto en forraje como en granos de maíz MON810 y de maíz control no transgénico cultivados en parcelas experimentales durante dos ciclos, la EFSA concluye que no se detectaron cambios composicionales significativos en maíz MON810 cuando es comparado con su control no transgénico. En la presente evaluación el panel GMO de la EFSA consideró los datos completos del estudio composicional proporcionado por el solicitante y publicado por investigadores independientes después de que la autorización comercial del maíz MON810 fue concedida, y se concluye que el maíz MON810 es composicionalmente equivalente a

sus contrapartes convencionales excepto por la presencia de la proteína Cry1Ab (Autran, *et al.* 2003).

Los estudios demuestran que al no haber alteración en la composición nutrimental no hay alteraciones en las rutas metabólicas de las plantas con el evento MON-00810-6.

Referencias:

Autran, J.-C., Bénétrix, F., Bloc, D., Burghart, P., Chaurano, M., Combe, N., Melcion, J.-P., 2003. Composition and technological value of genetically modified and conventional maize (Zea mays L.) grains. Sciences des aliments, 23: 223-247.

EFSA. 2009. Applications (EFSA-GMO-RX-MON810) for renewal of authorisation for the continued marketing of (1) existing food and food ingredients produced from genetically modified insect resistant maize MON810; (2) feed consisting of and/or containing maize MON810, including the use of seed for cultivation; and of (3) food and feed additives, and feed materials produced from maize MON810, all under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA journal 1149, 1-85.

Lemaux, P.G., 2009. Genetically engineered plants and foods: a scientist"s analysis of the issues (Part II). Annual Review of Plant Biology, 60: 511-559

Priestley, A.L., Brownbridge, M., 2009. Field trials to evaluate effects of Bt-transgenic silage corn expressing the Cry1Ab insecticidal toxin on non-target soil arthropods in northern New England, USA. Transgenic Research, 18: 425-443.

Scientific opinion on applications for renewal of authorisation for the continued marketing of maize MON810 and existing derived food and feed products The EFSA Journal (2009) 1149, 15-85

V. Cambios en la capacidad competitiva del OGM en comparación con la contraparte no modificada, incluyendo supervivencia y reproducción, producción de estructuras reproductoras, periodos de latencia y duración del ciclo de vida

No se observaron cambios estadísticamente significativos cuando se realizó la comparación agronómica entre el maíz genéticamente modificado y su contraparte convencional. Por lo que se comprueba que el maíz MON-00810-6 es equivalente agronómicamente a su contraparte convencional. Los resultados de la comparación agronómica se encuentran en este reporte de resultados a partir de la página 29.

VI. Posibles efectos al ambiente y a la diversidad biológica por la liberación del OGM, incluyendo, el protocolo utilizado para establecer estos posibles efectos

No existen receptores para las proteínas delta-edotoxinas de las subespecies *Bacillus thuringiensis* sobre la superficie de células intestinales de mamíferos, además los humanos no son susceptibles a estas proteínas (Sacchi et al., 1986; Hofmann et al., 1988b; Noteborn et al., 1995). En adición a la falta de receptores para las proteínas Bt, la ausencia de efectos adversos en humanos es además apoyada por numerosas revisiones en la seguridad de las proteínas Bt y la larga historia del uso de productos Bt microbianos (Ignoffo, 1973; Shadduck, 1983; Siegel and Shadduck, 1989;McClintock et al., 1995).

El historial en su uso y la literatura sugieren que las proteínas bacteriales Bt no son toxicas para humanos, otros vertebrados e insectos benéficos. El centro activo insecticida de la proteína Bt expresada en el maíz MON 810 (Cry1Ab) muestra ser equivalente a la proteína microbiana original. Esta proteína es activa solamente contra insectos lepidópteros específicos.

Por otro lado la proteína Cry1Ab no muestra homología con proteínas que se conocen son toxicas para humanos y para otros mamíferos y/o alergenicas. Adicionalmente esta proteína es degradada rápidamente bajo condiciones gástricas simuladas. Además la proteína Cry1Ab ha sido extensamente evaluada en diversas opiniones por el panel OGM de la EFSA. No se encontraron riesgos para humanos o animales de la proteína Cry1Ab.

En estudios de 90 días de alimentación en ratas, no se observaron indicaciones de efectos adversos. Adicionalmente un estudio de alimentación de pollos de 42 días proporciono evidencia de la equivalencia nutricional entre el maíz MON810 y su control convencional. Además el panel GMO de la EFSA opina que el maíz MON810 es tan seguro como su contraparte convencional en cuanto a alergenicidad y que la alergenicidad de la planta en total no cambia con la modificación genética.

En conclusión el panel de OGM de la EFSA considera que el maíz MON810 es tan seguro como su contraparte convencional con respecto a efectos potenciales en la salud humana y animal. El panel también concluye que es improbable que el maíz MON810 tenga algún efecto adverso sobre el ambiente en el contexto de su uso como cultivo.

Así mismo se realizó un estudio de flujo de polen en el que se determinó la distancia a la cual se dispersa el polen de maíz amarillo en un lote de maíz blanco; el estudio fue llevado a cabo para dar respuesta a la preocupación de las autoridades mexicanas respecto a la posibilidad de introgresión de transgenes en maíces convencionales. Los lineamientos del protocolo así como los resultados de este estudio se encuentran en el Anexo I de éste reporte.

Adicionalmente en se realizó un estudio de efectos en organismos no blanco (NTO), donde no se observaron diferencias en las poblaciones de insectos benéficos del maíz MON810 y su contraparte convencional. Los lineamientos de éste protocolo así como sus resultados se encuentran en el presente reporte a partir de las páginas 17 y 26, respectivamente.

VII. Efectos de las prácticas de uso y aprovechamiento

En términos de la relación costo-beneficio, durante esta etapa experimental de liberación, estos no pueden ser estimados debido a que se necesita tener un comparativo más real en cuanto a producción agrícola se refiere, por lo cual se sugiere que esta evaluación se realice en una etapa piloto. Sin embargo, se pueden observar beneficios potenciales con el uso de la tecnología los cuales se mencionan en las conclusiones y beneficios potenciales a partir de la página 31 de éste reporte.

VIII. En su caso, referencia bibliográfica sobre los datos presentados.

EFSA. 2009. Applications (EFSA-GMO-RX-MON810) for renewal of authorisation for the continued marketing of (1) existing food and food ingredients produced from genetically modified insect resistant maize MON810; (2) feed consisting of and/or containing maize MON810, including the use of seed for cultivation; and of (3) food and feed additives, and feed materials produced from maize MON810, all under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA journal 1149, 1-85.

Center for environmental risk assessment. International Life Sciences Institute (ILSI). Research Foundation. http://cera-gmc.org/docs/decdocs/02-269-007.pdf. http://cera-gmc.org/docs/decdocs/02-269-007.pdf

PERMISO B00.04.03.02.01.-3743 PARA EVALUAR EL EVENTO MON-00810-6 EN CHIHUAHUA

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Reporte Final Febrero del 2012

INTRODUCCIÓN

PHI México S.A. de C.V. recibió de la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria Acuícola y Pesquera el permiso **B00.04.03.02.01.-3743** para sembrar maíz genéticamente modificado MON-00810-6 en etapa experimental. El permiso establece las medidas de bioseguridad y condicionantes que deben establecerse durante la liberación experimental al ambiente. Durante el desarrollo de la experimentación se evaluaron, la eficacia biológica, la equivalencia agronómica y el efecto del evento en insectos no blanco.

Si bien se ha discutido en muchos foros sobre los posibles riesgos del cultivo de maíz genéticamente modificado en México y se ha solicitado información de sus efectos a la diversidad biológica, a la sanidad vegetal, animal y acuícola, es necesario evaluar mediante un análisis imparcial y objetivo los beneficios que podría presentar el cultivo del maíz genéticamente modificado en nuestro país.

Por lo anterior, es fundamental proceder a la experimentación en campo en donde se evalúen los beneficios potenciales de los híbridos de maíz genéticamente modificado para el medio ambiente, el agricultor y la calidad de la cosecha.

La tecnología MON-00810-6 fue desarrollada introduciendo el gen Cry1Ab, aislado de la bacteria *Bacillus turingiensis*, dentro de un híbrido de maíz por el método de transformación llamado aceleración de partículas o bio-balística. El gen *cry1Ab* produce la proteína insecticida Cry1Ab que tiene efecto contra plagas de maíz como *Heliotis zea, Spodoptera. frugiperda y exigua, Agrotis ipsilon y Diatraea saccharalis*. Cry1Ab

es una delta endotoxina, idéntica a la encontrada en la naturaleza. La proteína Cry1Ab confiere resistencia a algunos insectos lepidópteros. La proteína Cry1Ab contenida en los materiales genéticamente modificados, debe ser ingerida por el insecto para tener un efecto insecticida y en su forma cristalina es insoluble en solución acuosa a pH neutro o ácido (Huber and Luthy, 1981; Bulla et al., 1977); sin embargo, el pH del intestino de los insectos es alcalino lo cual favorece la solubilización del cristal proteínico. La proteína solubilizada es subsecuentemente activada por las proteasas del intestino del insecto, la cual se distribuye a través de la membrana peritrófica al epitelio del intestino medio y se une a receptores altamente específicos (Wolfersberger et al., 1986; Hofmann et al., 1988). El intestino se paraliza como consecuencia de los cambios en los electrolitos y el pH causando que la larva del insecto pare de alimentarse y muera. Los resultados hasta ahora observados en experimentos establecidos en otros países no han demostrado efectos adversos para la diversidad biológica y el medio ambiente en el desarrollo del maíz MON-00810-6. Las proteína Cry1Ab entre otras, son específicas para lepidópteros, yson consideradas inocuas para mamíferos, pájaros e insectos no blanco, ya que estas proteínas no se solubilizan ni se disuelven en los intestinos ácidos de insectos depredadores (Castillejos, et al., 2000).

Los objetivos de esta investigación en la etapa experimental, fueron: a) Evaluar la Eficacia Biológica del evento MON-00810-6 frente al ataque de insectos lepidópteros, en híbridos adaptados a las condiciones de Cuauhtémoc, b) Evaluar el efecto de la tecnología MON-00810-6 en insectos no blanco, c) Generar datos e información que permita estimar si la modificación genética del evento MON-00810-6 ha alterado la equivalencia agronómica, en comparación con su control no modificado (Isohíbrido) y d) Determinar la distancia a la cual se dispersa el polen de maíz amarillo en un lote de maíz blanco.

MATERIALES Y METODOS

PHI México S.A. de C.V.

Localización y características de la parcela

El presente experimento se llevo a cabo en el Municipio de Cuauhtémoc

del Estado de Chihuahua.

Los lotes seleccionados para los experimentos se encontraban aislados a una distancia de al menos 600 m de otros lotes en los que se sembraba el mismo cultivo para evitar el flujo de polen en ambos sentidos. El área experimental que ocupó un total de 713 m² fue rodeada con la siembra simultánea de 4 surcos con el maíz hibrido de referencia y delimitada por una cerca electrificada de 4 hilos que se mantuvo bajo vigilancia durante las 24 horas del día, hasta la destrucción de plantas voluntarias posterior a la cosecha. La superficie total sembrada con maíz MON-00810-6 fue de 192 m².

El manejo agronómico del cultivo durante el desarrollo del experimento se hizo en base a las prácticas agronómicas de la región norte del estado de Chihuahua.

Material Genético

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó un híbrido de maíz genéticamente modificado con el evento MON-00810-6 que posee la proteína Cry1Ab de la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. Aizawai (Bt), y su Isohíbrido.

Siembra

Las parcelas experimentales se sembraron el 30 de Mayo del 2011 conforme al protocolo autorizado por la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria Acuícola y Pesquera.

Diseño Experimental

El diseño experimental para evaluar la eficacia biológica del evento y la equivalencia agronómica fue de parcelas divididas en bloques al azar con 4 repeticiones para cada tratamiento.

Tratamientos

Eficacia Biológica

Página 13 de 33

La parcela grande consistió de 2 tratamientos: infestación natural y control insecticida. (Figura 1). La parcela chica consistió de tres híbridos sembrados uno al lado del otro, en diez surcos: dos surcos del híbrido de referencia, cuatro del isohíbrido y cuatro del material genéticamente modificado MON-00810-6. Las parcelas del maíz MON-00810-6 y su isohíbrido se intercalaron con otros híbridos, tal y como se ilustra en la Figura 1. La parcela útil fueron los dos surcos centrales de cada material evaluado excepto el de referencia que solo se uso como bordo entre las parcelas. Los surcos de cada parcela chica tenían una longitud de 5 m de largo; cada surco fue ajustado a 30 plantas para evitar diferencias en tratamientos y repeticiones. Los tratamientos evaluados en el presente experimento fueron:

Parcelas grandes:

- 1. Control insecticida
- 2. Infestación natural

Parcelas chicas (apareadas)

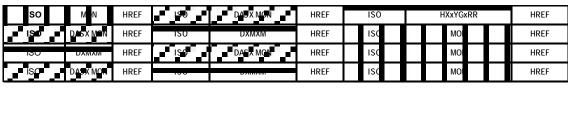
- a) Isohíbrido
- b) Híbrido MON-00810-6
- c) Híbrido de referencia (No se usó para el análisis estadístico)

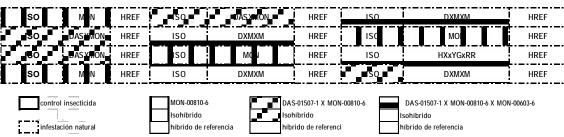
El tratamiento insecticida se aplicó 34 y 44 días después de la siembra, asegurando que la presión de la plaga en la parcela experimental fuera suficiente para evaluar la eficacia biológica del maíz con la tecnología MON-00810-6.

Organismos No Blanco

Para evaluar el efecto de la tecnología MON-00810-6 en los insectos no blanco se sembraron dos parcelas experimentales de 16 surcos de 5 m de largo. Una de las parcelas se sembró con maíz con la tecnología MON-00810-6 y la otra con un híbrido de referencia. En cada parcela se colocó una trampa amarilla pegajosa y una trampa pitfall (Figura 1). Las parcelas del maíz MON-00810-6 y del híbrido de referencia se sembraron adyacentes a las de otros dos híbridos, tal y como se ilustra en la Figura 1.

CROQUIS DE EFICACIA Y EQUIVALENCIA AGRONÓMICA





CROQUIS DE INSECTOS NO BLANCO

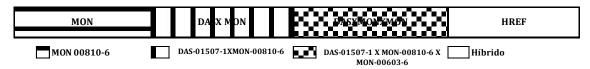


Figura 1. Diseño experimental de siembra para evaluar el maíz con la tecnología MON-00810-6. HREF= híbrido de referencia, ISO= isohíbrido y MON= maíz MON-00810-6.

Variables Evaluadas

Eficacia Biológica.

- 1. Porcentaje de plantas con daño foliar
- 2. Porcentaje de tallos dañados por Gusano Barrenador del Tallo
- 3. Extensión de la galería en tallos

1. Daño por Gusano Cogollero, *Spodoptera frugiperda*. En las etapas vegetativas, V2-V4, V6-V8 y V10 (hojas por planta), se evaluaron 10 plantas de los surcos centrales de MON-00810-6y 10 de su isohíbrido en cada una de las parcelas. El daño se midió usando la escala de Davis (Davis, *et al.*, 1989; Guthrie, *et al.*, 1960; Mihm, J.A. 1983a, b) (Tabla 2), donde 1 indica altamente resistente y 9 susceptible. También se calculó el número promedio de plantas con daño de cogollero y el porcentaje. El promedio del valor Davis y el porcentaje se calcularon utilizando las evaluaciones de las tres etapas de desarrollo (Etapa V2-V4, V6-V8 y V10).

Tabla 2. Descripción de la escala de Davis, usada para evaluar el daño causado por el Gusano Cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*¹

Nivel de Resistencia	Escore	Descripción
Altamente Resistente	1	Sin daño-algunas perforaciones en forma de piquetes de alfiler
Resistente	2	Perforaciones en forma de bala en pocas hojas
Resistente	3	Perforaciones en forma de bala en algunas hojas.
	4	Perforaciones en forma de bala en algunas hojas, pocas lesiones alargadas.
	5	Varias hojas con lesiones alargadas.
Resistencia Intermedia	6	Varias hojas con lesiones alargadas menores de 2.5 cm.
	7	Lesiones alargadas comunes en la mitad de las hojas
Susceptible	8	Lesiones alargadas comunes en $\frac{1}{2}$ - $\frac{3}{4}$ de las hojas.
	9	La mayoría de las hojas con lesiones alargadas.

¹Davis et al. (1989, 1992), Guthrue et al (1960, 1978) and Mihm (1983^ab)

2. Daño por Gusano Barrenador del Tallo (*Diatraea spp.*) El día anterior a la cosecha se evaluaron 10 plantas de los surcos laterales de cada parcela de MON-00810-6 y 10 de su isohíbrido. El tallo de cada planta se cortó longitudinalmente y se determinó si existía daño por Gusano Barrenador del Tallo y, en su caso la longitud del la galería en cm (Rodríguez del Boque, L. A. 1996).

3. Daño por Gusano Elotero, *Helicoverpa zea*. En la cosecha, se evaluaron10 mazorcas de los surcos centrales de MON-00810-6 y 10 de su isohíbrido en cada una de las parcelas. Se evaluó el porcentaje de mazorcas con galerías y se midió la extensión de las mismas en centímetros, con la ayuda de un vernier.

Organismos No Blanco

En las parcela experimental en la que se sembró maíz con el evento MON-00810-6 y su isohíbrido se se cuantificó el número y clase de artrópodos no blanco. Se colocó una trampa amarilla pegajosa y una trampa *pitfall*; en estas parcelas también se colectaron insectos con una red entomológica, para lo cual se recorrió la parcela dando 50 redazos (ida y vuelta) sobre el follaje del lisohíbrido y otros 50 redazos (ida y vuelta) en las parcelas sembradas con el evento MON-00810-6. Los insectos capturados con los tres tipos de muestreo se cuantificaron y clasificaron para determinar si el evento tenía algún efecto sobre las poblaciones de insectos no blanco.

Equivalencia Agronómica

La equivalencia agronómica se evaluó en la parcela con control de insecticida.

- 1. Vigor de Plántula (VP). Cuando el maíz alcanzo en promedio la etapa de desarrollo V1-V2, se determinó el valor del vigor de las plántulas. Una escala del 1-9 fue utilizada en la que, 1 es el valor más bajo y 9 el valor más alto. Estos datos se determinaron antes del raleo manual y/o la primera labor de cultivo.
- Emergencia (EM). Cuando el maíz alcanzó la etapa de desarrollo promedio de V2-V4, se determinó la cantidad de plántulas emergidas por parcela. Este número se determinó antes del raleo y la primera labor de cultivo.

- 3. Días a Floración Masculina y Femenina (DFM/DFF). Se determinó la fecha en que el 50% de las plantas de la parcela presentaron estigmas de 2 cm de largo y la fecha en que el 50% de las espigas de las plantas se encontraban liberando polen.
- 4. Staygreen (SG). El *staygreen* se determinó cuando el 50% de las plantas alcanzaron la etapa de desarrollo R6 (madurez fisiológica). Una escala del 1-9 se utilizó, en donde, 1 es el valor más bajo y 9 es el valor más alto.
- 5. Altura de Mazorca (AM). La altura de mazorca se determinó desde la superficie del suelo a la base del nudo donde se encuentra unida la mazorca. Se cuantificó cuando el 50% de las plantas alcanzaron la etapa de desarrollo R2, cuantificando la altura de la mazorca en 5 plantas representativas de cada parcela.
- 6. Altura de Planta (AP). La altura de las plantas se determinó desde la superficie del surco hasta la lígula de la hoja bandera. Se cuantificó cuando el 50% de las plantas alcanzaron la etapa de desarrollo R2, cuantificando la altura de 5 plantas representativas de cada parcela.
- 7. Mazorcas Caídas (MC). Previo a la cosecha se cuantificó el número de mazorcas caídas por parcela. Las mazorcas caídas fueron aquellas que se encontraron en el suelo completamente desprendidas de la planta.
- 8. Acame de Tallo (AT). Previo a la cosecha se cuantificó el número de plantas por parcela quebradas por debajo de la mazorca. Los tallos quebrados por arriba de la mazorca principal no se incluyeron dentro de estos datos.
- 9. Acame de Raíz (AR). Un día antes de la cosecha, se cuantificó el número de plantas con acame de raíz por parcela (excluyendo tallos quebrados). Se consideraron plantas con acame de raíz aquellas que presentaban una inclinación mayor de 30º respecto de la vertical
- 10. Conteo final de Plantas (CF). Previo a la cosecha se determinó el número de plantas por parcela, incluyendo las plantas con acame de raíz o tallo.

- 11. Peso de la parcela (PP). La cosecha terminó el 01 de _Diciembre del 2011; la actividad se realizo de forma manual. Las mazorcas de cada material y parcela se contaron y desgranaron en una desgranadora marca Azteca Modelo 1.5 con un motor de 5.5 hp, el grano fue pesado en una balanza granataria Modelo ECO-B-30.
- 12. Humedad del grano (HM). la humedad del grano por parcela y material, se determinó con un medidor marca John Deere SW 08120.
- 13. Pudrición del Tallo (PT). El día de la cosecha se evaluaron 10 plantas de los surcos laterales de maíz GM y 5 de su isohíbrido en cada una de las parcelas. El tallo de cada planta se cortó longitudinalmente y se determinó si existía pudrición del tallo y la severidad de la misma, utilizando una escala de 1 a 9 en donde 1-2 daño severo, 3-5 daño moderado, de 6-8 ligero y 9 sin síntoma.
- 14. Pudrición de mazorca y granos (PM). Al momento de la cosecha se determinó el grado de pudrición de la mazorca, utilizando una escala 1-9, en donde 9 significa ningún síntoma, 6-8, síntomas ligeros; 3-5 moderado y 1-2, severo.
- 15. Escala de llenado de mazorca (LLM). Este parámetro se llevó a cabo previo a la cosecha, de la uniformidad de la mazorca en el llenado de grano y se realizó en 5 mazorcas de cada surco, utilizando una escala de 1 a 5 donde 1 es muy deficiente y 5 es óptimo.
- 16. Numero de mazorcas cosechadas (NM). La cosecha se llevó a cabo en los dos surcos centrales y de forma manual, posteriormente se contabilizo el número de mazorcas de cada material y se colocaron etiquetado.
- 17. Rendimiento (R). Se evaluó el porcentaje de humedad del grano y el peso del grano como se describe en el numeral 11 y 12. El rendimiento por parcela se calculo por medio de la siguiente fórmula: Rendimiento (ton/ha) = [((100-%Hum)/86) x Peso de Campo]/L x W x N x 0.1; donde: Rendimiento = Rendimiento de grano Total ajustado a ton/ha al 14% de humedad

(%) Hum = Porcentaje de humedad en la muestra de grano Peso de Campo = Rendimiento de grano Total (kg por parcela) PHI México S.A. de C.V.

L = Longitud de la parcela en metros

W = Distancia entre surcos en metros

N = Número de surcos por parcela.

Cosecha

La cosecha terminó el día 01 de Diciembre del 2011, la actividad se realizo de forma manual. Las mazorcas de cada material y parcela se contaron y desgranaron en una desgranadora marca Azteca Modelo 1.5 con un motor de 5.5 hp, el grano fue pesado en una balanza granataria Modelo ECO-B-30, la

humedad del grano por parcela y material, se determinó con un medidor marca

John Deere SW 08120.

Posterior a la cosecha todo el grano y residuos vegetales fueron destruidos con un molino y todo el material resultante fue incorporado al suelo por medio de

una rastra.

Postcosecha

Durante 30 días posteriores a la finalización del experimento, el lote fue inspeccionado para la detección de plantas voluntarias las cuales fueron

destruidas mecánicamente.

Análisis estadístico

Todas las variables se analizaron con el paquete SAS (2004) para un diseño experimental de bloques al azar con parcelas apareadas, utilizando la pruebe

Tukey 0.05% para comparar las medias de cada tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Eficacia Biológica

Daño por Gusano Cogollero (Spodoptera frugiperda)

El daño por cogollero en maíz con la tecnología MON-00810-6 fue

significativamente menor que el daño registrado en su isohíbrido (Figura 2). En

el maíz MON-00810-6 el daño medido con la escala de Davis fue de 1.18 y 1.34

para las parcelas con y sin control de insecticida, respectivamente; mientras que el isohíbrido presento un nivel de daño de 1.96 y 2.28 para las parcelas con y sin aplicación de insecticida, respectivamente. La aplicación de insecticidas redujo el daño por cogollero pero esta reducción no fue estadísticamente significativa (Figura 2).

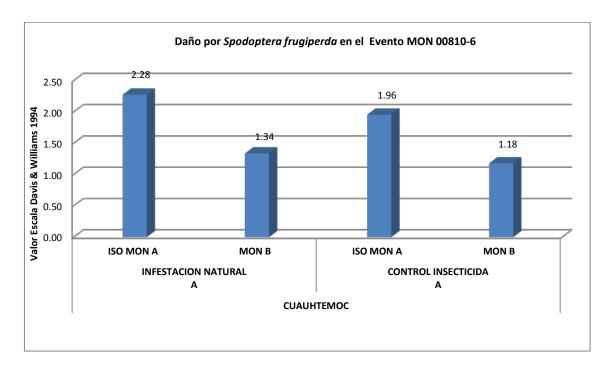


Figura 2. Daño por Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*) expresado en la escala de Davis en parcelas sembradas con maíz con la tecnología MON-00810-6 (MON) y su Isohíbrido (ISO MON) en Cuauhtémoc, Chihuahua, ciclo Primavera/Verano del 2011. Tratamientos seguidos por la misma letra, en el eje horizontal no difieren significativamente (Tukey 0.05).

Porcentaje de daño por Gusano Cogollero. Cuando se compara el porcentaje de plantas con daño por Gusano Cogollero, la diferencia entre el maíz con la tecnología MON-00810-6 y su isohíbrido es más notoria. Las parcelas de maíz con la tecnología MON-00810-6 presentaron un porcentaje de plantas con daño significativamente menor al registrado para su Isohíbrido (Figura 3). El daño en maíz con la tecnología MON-00810-6 fue de 15.48 y 26.19% para los tratamientos con control insecticida e infestación natural, respectivamente; mientras que en el isohíbrido fue de 36.5 y 49.4% para los tratamientos con control insecticida e infestación natural (Figura 3).

Evolución del daño por cogollero. Al graficar el daño por cogollero durante las etapas de desarrollo del maíz, se observó claramente la diferencia entre el maíz con la tecnología MON-00810-6 y su isohíbrido en Cuauhtémoc, Chihuahua (Figura 4). La aplicación de insecticida en V2-V4 se reflejó en un menor incremento del daño por Gusano Cogollero.

Los resultados permiten concluir que el maíz genéticamente modificado MON-00810-6 es resistente al Gusano Cogollero, como lo indican los diferentes parámetros utilizados para evaluar la eficacia biológica del evento. El hecho de que la plaga deba alimentarse del híbrido MON-00810-6 para intoxicarse y morir, explica porque en algunos casos se puede presentar un daño por Gusano Cogollero (grado 1-2 en la escala de Davis).

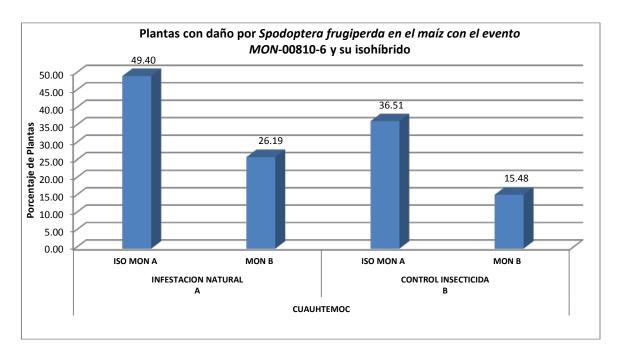


Figura 3. Daño por Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*) expresado en porcentaje de plantas afectadas en parcelas sembradas con maíz con la tecnología MON-00810-6 (MON) y su Isohíbrido (ISO MON) en, Chihuahua, ciclo Primavera/Verano 2011. Tratamientos seguidos por la misma letra, en el eje horizontal no difieren significativamente (Tukey 0.05).

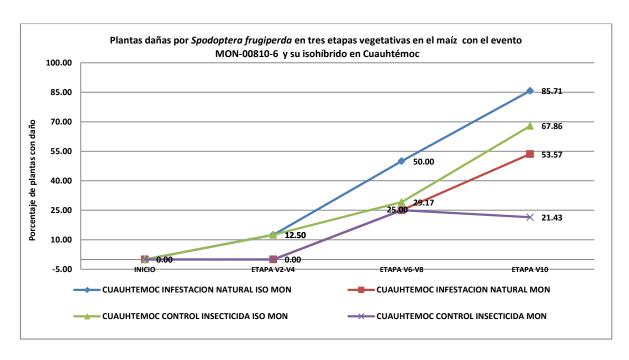
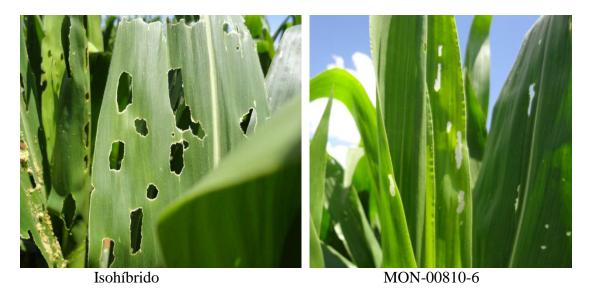


Figura 4. Comportamiento del daño por Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en diferentes etapas vegetativas, en maíz con el evento MON-00810-6 (MON) y su Isohíbrido (ISO MON) en Cuauhtémoc, Chihuahua, ciclo P-V 2011.



Daño por Gusano Cogollero.

Daño por Gusano Barrenador del Tallo (Diatraea spp.)

La incidencia de daño por Gusano Barrenador del Tallo fue mínima; solo 1 de las 40 plantas (2.5%) evaluadas presentaron daño por *Diatraea spp* en las

parcelas del isohíbrido. Esta baja incidencia de la plaga impidió evaluar estadísticamente la eficacia biológica del evento (Figura 5).

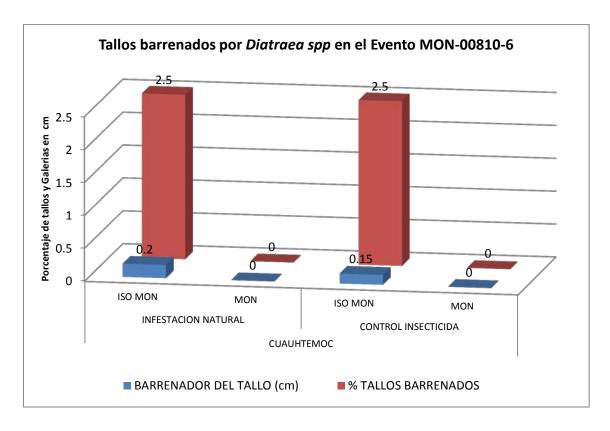
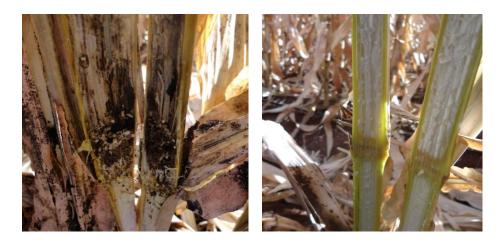


Figura 5. Porcentaje de tallos barrenados por *Diatraea spp* en parcelas sembradas con maíz con la tecnología MON-00810-6 (MON) y su Isohíbrido (ISO MON) en Cuauhtemoc, Chihuahua ciclo P-V 2011.



Izq. daño por Gusano Barrenador del Tallo (Diatraea spp.). Der. Tallo sin daño.

Daño por Gusano Elotero (Helicoverpa zea)

El maíz con la tecnología MON-00810-6 presentó mazorcas con galerías causadas por *H. zea* de menor tamaño en comparación con su isohíbrido. Esta diferencia fue significativa en las parcelas con infestación natural; mas no así en las parcelas con aplicación de insecticida; la longitud de las galerías en el isohíbrido fue de 4.3 y 3.5 cm para las parcelas con infestación natural y con control de insecticida, respectivamente; mientras que en el maíz con la tecnología MON-00810-6 el daño fue de 2.8 y 3.2 cm en las parcelas con infestación natural y con control de insecticida, respectivamente (Figura 6). Estos resultados indican que el maíz con la tecnología MON-00810-6 reduce la capacidad de alimentación de las larvas de *H. zea*. Es probable que el insecticida no haya tenido efecto ya que la aplicación en etapa V2-V4 fue dirigida al control del Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*) de acuerdo a lo establecido en el protocolo. *H. zea* ataca al maíz a partir de la etapa reproductiva.

La longitud de las galerías en el isohíbrido fue de 4.3 y 3.5 cm para las parcelas con infestación natural y con control de insecticida, respectivamente; mientras que en el maíz con la tecnología MON-00810-6 el daño fue de 2.8 y 3.2 cm en las parcelas con infestación natural y con control de insecticida, respectivamente No se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos con control insecticida e infestación natural (Figura 6).

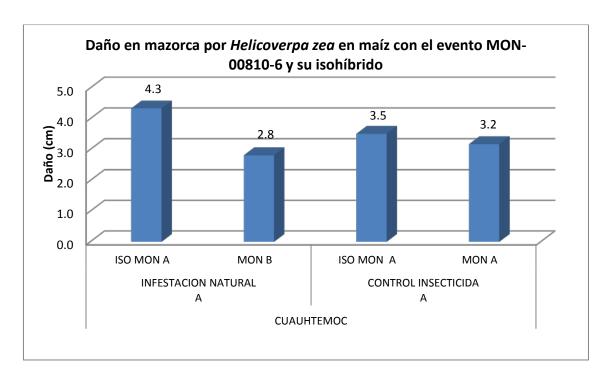


Figura 6. Longitud promedio de galería en mazorcas de maíz con el evento MON-00810-6 (MON) y su isohíbrido (ISO MON) en la localidad de Cuauhtémoc, Chihuahua, ciclo Primavera/Verano 2011. Tratamientos seguidos por la misma letra, en el eje horizontal no difieren significativamente (Tukey 0.05).



Daño por Gusano Elotero (H. zea) en mazorca.

Organismos No Blanco

Los insectos no blanco capturados en las parcelas sembradas con el evento MON 00810-6 y su isohíbrido fueron clasificados en los siguientes órdenes: Aranae, Hymenoptera, Hemiptera, Coleoptera, Neuroptera y Diptera. A continuación se presenta el listado de artrópodos benéficos (parasitoides, depredadores y polinizadores) capturados con los diferentes tipos de muestreo: trampas *pitfall*, amarillas y red entomológica (Tabla 2).

Tabla 2. Presencia o ausencia de artrópodos benéficos capturados en Cuauhtémoc, Chihuahua durante el ciclo Primavera/Verano 2011.

Orden	Familia	Grupo Funcional	MON00810-6	Isohíbrido
Aranae		Depredador	*	*
Coleoptera	Staphylinidae	Depredador	*	*
Coleoptera	Coccinelidae	Depredador	*	*
Coleoptera	Cantharidae	Depredador	*	*
Diptera	Phoridae	Parasitoide	*	*
Diptera	Asilidae	Depredador	*	*
Hemiptera	Anthocoridae	Depredador	*	*
Hemiptera	Geocorixydae	Depredador	*	*
Hemiptera	Myridae	Depredador		*
Hemiptera	Pentatomidae	Depredador	*	*
Hemiptera	Redividae	Depredador	*	
Hymenoptera	Apidae	Polinizador		*
Hymenoptera	Bethyloidea	Parasitoide	*	
Hymenoptera	Brachonidae	Parasitoide	*	*
Hymenoptera	Cynipidae	Parasitoide	*	*
Hymenoptera	Encyrtidae	Parasitoide	*	
Hymenoptera	EulophIdae	Parasitoide	*	
Hymenoptera	Eurytomidae	Parasitoide	*	*
Hymenoptera	Evanidae	Parasitoide	*	
Hymenoptera	Formicidae	Depredador	*	*
Hymenoptera	Halictidae	Parasitoide	*	*
Hymenoptera	Ichneumonidae	Parasitoide	*	*
Hymenoptera	Megaspiilidae	Parasitoide	*	*
Hymenoptera	Mymaridae	Parasitoide	*	*
Hymenoptera	Pteromalidae	Parasitoide	*	*
Hymenoptera	Vespidae	Polinizador	*	
Hymenoptera	Figitidae	Parasitoide	*	
Hymenoptera	Aphelinidae	Parasitoide	*	
Hymenoptera	Platygasteridae	Parasitoide	*	

Hymenoptera	Alictidae	Parasitoide	*	*
Neuroptera	Crysopidae	Depredador	*	*
	Número de Familias		29	22

El número promedio de insectos por semana en las parcelas de maíz con la tecnología MON-00810-6 fue similar al de las parcelas con el hibrido de referencia en los tres tipos de muestreo utilizados (Figura 8). Tampoco se encontraron diferencias en los insectos polinizadores, depredadores y parasitoides capturados con los distintos métodos de trampeo (Figura 9). Esto demuestra que no existe un efecto negativo del evento MON-00810-6 en la diversidad ni en la densidad de población de insectos no blanco.

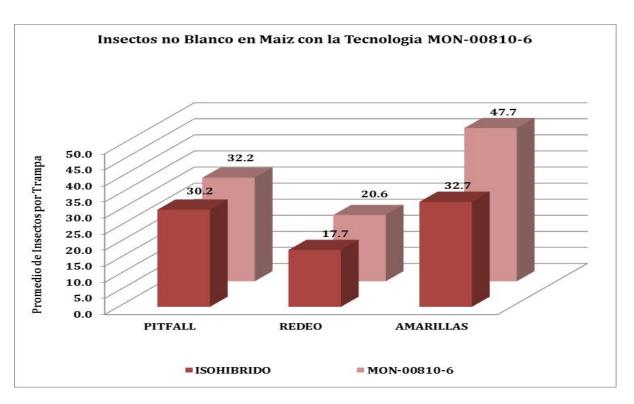


Figura 8. Promedio de insectos beneficos capturados en los diferentes tipos de trampas en parcelas sembradas con maíz con la tecnología MON-00810-6 y su Isohíbrido en Cuauhtémoc, Chihuahua, ciclo Primavera/Verano 2011.

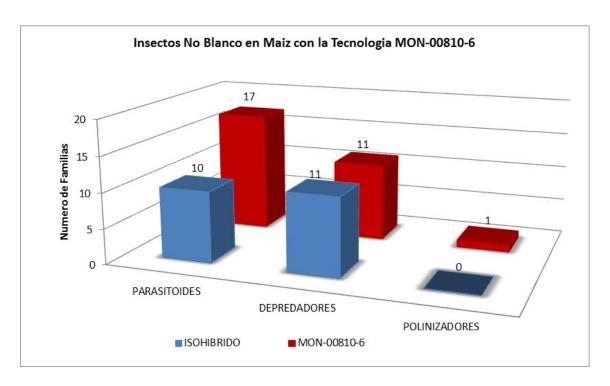


Figura 9. Número de familias por grupo funcional capturadas en maíz con el evento MON-00810-6 y su isohíbrido en Cuauhtémoc Chihuahua, ciclo Primavera/Verano 2011.

Rendimiento

Las parcelas sembradas con el híbrido de maíz MON-00810-6 presentaron un rendimiento significativamente mayor que su isohíbrido (Figura 10). No se encontró diferencia significativa en rendimiento entre las parcelas con y sin control de insecticida.

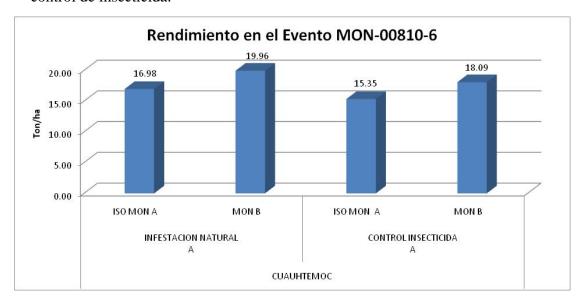


Figura 10. Rendimiento de maíz en ton/ha en parcelas sembradas con maíz con la tecnología MON-00810-6 (MON) y su isohíbrido (ISO MON) en Cuauhtémoc, Chihuahua. ciclo primavera/verano 2011. Tratamientos seguidos

por la misma letra, en el eje horizontal no difieren significativamente (Tukey 0.05).

Equivalencia Agronómica

Se tomaron en consideración 17 características fenotípicas y fisiológicas del cultivo para estimar si la modificación genética del evento MON-00810-6 afectó significativamente la equivalencia agronómica en comparación con su isohíbrido.

El maíz con el evento MON-00810-6 se comportó de manera equivalente a su isohíbrido en 16 de los 17 parámetro evaluados, tal y como lo refleja la ausencia de diferencias significativas entre ambos materiales (Tabla 3). El parámetro de Emergencia (EM) fue el único que presentó diferencias significativas entre el maíz MON-00810-6 y su isohíbrido.

Las diferencias en emergencia pueden atribuirse a la calidad del lote de semilla empleada, razón por la cual el protocolo establece que debe hacerse un aclareo a 30 plantas por surco para evitar que esto afecte la evaluación de otras características.

Tabla 3. Equivalencia agronómica del maíz MON-00810-6 y su isohíbrido en Cuauhtémoc, Chihuahua.

Cuauhtémoc			
Parámetro	Isohíbrido	MON-00810-6	Tukey
PT	8.98	8.90	NS
PM	8.25	8.55	NS
LL_M	5.00	5.00	NS
NM	68.25	74.00	NS
PG	13.6	15.9	NS
HG	26.1	25.9	NS
VP	7.50	8.00	NS
Em	25.3	46.9	*
DFM	68	68	NS
DFF	66	66	NS
SG	7	7	NS
AM	105	98	NS

AP	249	261	NS
MC	0.00	0.00	NS
AT	0.12	0.37	NS
AR	0.00	0.00	NS
CF	25.5	33.5	NS

PT.-Pudrición del tallo; PM.-Pudrición de la mazorca; LL_M.-Llenado de mazorca; NM.- Número de mazorcas cosechadas; PG.- Peso de grano.- HG.- Humedad del grano; VP.- Vigor de planta; Em.- Emergencia; DFM.- Días a floración masculina; DFF.- Días a floración femenina; SG.- Staygreen; AM.- Altura de mazorca; AP.- Altura de planta; MC.- Mazorcas caídas; AT.- Acame de tallo; AR.-Acame de raíz; CF.-Conteo final.

N/S Diferencias no significativas *Diferencias significativas

En forma general después de analizar las 17 características agronómicas, incluyendo parámetros de Vigor de Emergencia, Desarrollo Vegetativo, Madurez, Características Fenotípicas, así como parámetros de rendimiento, se puede concluir que no hay una diferencia sustancial y/o funcional entre el maíz con el evento MON-00810-6 en relación a su isohíbrido.

CONCLUSIONES

Eficacia Biológica

- 1. El maíz genéticamente modificado con el evento MON-00810-6 fue resistente al ataque de Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y al Gusano Elotero (*Helicoverpa zea*) en la localidad de Cuauhtémoc, Chihuahua.
- 2. El Gusano Barrenador del Tallo (*Diatrea* spp.) presentó una densidad de población muy baja, por lo que no se pudo evaluar la eficacia biológica del evento MON-00810-6 sobre la plaga.

Organismos No Blanco

1. El evento MON-00810-6 no mostró efecto negativo sobre la diversidad ni la densidad de poblaciones de insectos no blanco en la localidad de Cuauhtémoc, Chihuahua.

Equivalencia Agronómica

1. El maíz GM que contiene el evento MON-00810-6 fue agronómicamente equivalente a su isohíbrido, en la localidad de Cuauhtémoc, Chihuahua.

BENEFICIOS POTENCIALES

- I. Reducción del número de aplicaciones de insecticida; para el control de algunas plagas de insectos lepidópteros. Para este tipo de plagas el productor de la región regularmente realiza dos aplicaciones de insecticida, mismas que usando la tecnología MON-00810-6 podrían disminuir o no ser requerirían. Esto representa una reducción en los costos de producción.
- II. El uso de la tecnología MON-00810-6 es amigable con el medio ambiente, ya que la tecnología reduce la necesidad de aplicar insecticidas para el control de algunos lepidópteros y por lo tanto disminuye la contaminación química del suelo, el agua así como del producto (maíz).
- III. La tecnología MON-00810-6 es amigable con la agroecología pues, al reducir el uso de pesticidas, se protege la entomofauna benéfica fomentando el equilibrio ecológico de insectos parasitoides, depredadores, polinizadores así como de insectos plaga.
- IV. La tecnología MON-00810-6 tiene el potencial de reducir las poblaciones de otras plagas de Lepidópteros, como el Gusano Soldado (*Spodoptera exigua*).

LITERATURA CITADA

Bulla, L. A., Jr., K. J. Kramer, and L. I. Davidson. 1977. Characterization of the entomocidal parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis*. J. Bacteriol. **130**:375-383.

Huber, H. E. and Luthy, P. 1981. *Bacillus thuringiensis* (5-endotoxin: composition and activation. In *Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases* (ed. E. W. Davidson), pp. 209-234. Allanheld: Osmun., Totowa, NJ.

Hofmann, C, Luethy, P., Huetter, R. and Pliska, V. (1988). Binding of the delta endotoxin from *Bacillus thuringiensis* to brush border membrane vesicles of the cabbage butterfly (*Pieris brassicae*). *Eur. J. Biochem.* **173**, 85-91.

Wolfersberger, M. G., Hofmann, C. and Luethy, P. (1986). Interaction of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin with membrane vesicles isolated from lepidopteran larval midgut. *Zentralbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. I.* (Suppl.) **15**, 237-238.

Davis, F.M., Sen, S.N. & Williams, W.P. 1989. Mechanisms of resistance in corn to leaf feeding by southwestern corn borer and European corn borer (Lipidoptera: *Phyralidae*). *J. Econ. Entomol.*, 82: 919-922.

Davis, F.M., Williams, W.P. & Wiseman, B.R. 1989. Methods used in screening and determining mechanisms of resistance to the southwestern corn borer and fall armyworm. In CIMMYT 1989. Towards Insect Resistance Maize for the Third World: Proc. Int. Symp. on Methodologies for Developing Host Plant Resistance to Maize Insects. Mexico, DF, CIMMYT.

Guthrie, W.D., Dicke, F.F. & Neiswander, D.R. 1960. Leaf and sheath feeding resistance to the European corn borer in eight inbred lines of dent corn. Ohio Agric. Exp. Sta. Res. Bull. 860.

Mihm, J.A. 1983a. Efficient mass rearing and infestation techniques to screen for host plant resistance to maize stem borers (*Diatraea spp.*). Mexico, DF, CIMMYT.16 pp.

Mihm, J.A. 1983b. Techniques for efficient mass rearing and infestation in screening for host plant resistence to corn earworm, *Heliothis zea*. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. CIMMYT, El Batan, México. 16 pp.

Castillejos Vasty, García Luis, Cisneros Juan, Goulson Dave, D. Cave Ronald, Primitivo Caballero& Williams Trevor. 2000. The potential of *Chrysoperla rufilabris* and *Doru taeniatum* as agents for dispersal of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus in maize. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98: 353–359.

García, M., C. Watson y F. Salcedo. 2001. Evaluación de métodos para determinar resistencia al acame de raíces en maíz dulce (*Zea mays* L.). Bioagro 13 (1) 22-31.

Iannone, N. 2001. Control químico de Diatraea tecnología que apunta a la alta producción. Revista de tecnología agropecuaria. Divulgación técnica del INTA Pergamino. Vol. VI. Nro. 17. pp.33-37. *Diatraea saccharalis*

Aragón, J. 2002. Plagas de maíz y su control integrado. En: Guía Dekalb del cultivo de Maíz. E. Satorre et al. (Eds.). p 117-134. Monsanto Argentina S.A. Bs. As., Argentina. *Diatraea saccharalis*.