INFORMACIÓN NO CONFIDENCIAL

SOLICITUD DE LIBERACIÓN EXPERIMENTAL AL AMBIENTE DEL HÍBRIDO CON EVENTOS ACUMULADOS 1507 X NK603 (EVENTO DAS-01507-1 X MON-00603-6) PARA LAS REGIONES DE: LOS MOCHIS, VALLE DE CULIACÁN, LA ANGOSTURA Y NAVOLATO EN EL ESTADO DE SINALOA

PHI MÉXICO SA DE CV
DOW AGROSCIENCES DE MEXICO SA DE CV

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

Dow AgroSciences de México SA de CV
Ave. Vallarta 6503, Pisos 7 y 8
Torre Corey-Concentro
Guadalajara, Jal
C.P. 45010 Tel. (33) 3678-2400

I. Caracterización del OGM

a) Identificador único del evento de transformación

Nombre científico: *Zea mays* L.
Nombre común: Maíz.,
Nombre Comercial: HX1xRR2 (1507xNK603).
Identificador Único de la OCDE: DAS-01507-1 x MON-00603-6.

El organismo genéticamente modificado es un híbrido de maíz marca Pioneer™, que fue convertido, mediante retrocruzas con el evento DAS-01507-1 X MON-00603-6 referido como líneas de eventos acumulados o en stack 1507xNK603.

El evento DAS-01507-1 porta el inserto PHI 8999A que contiene el gen *cry*1F. El gen *cry*1F codifica la síntesis de pequeñas cantidades de proteína Cry1F en los tejidos de la planta de maíz proveyéndole protección contra insectos lepidópteros.

El evento MON-00603-6 sintetiza las proteínas CP4 EPSPS y CP4 EPSPS L214P que confieren tolerancia al herbicida glifosato, con antecedentes de uso seguro de este herbicida durante más de 30 años.

Las secuencias genéticas obtenidas de los organismos donantes presentes en la línea de eventos acumulados 1507xNK603 carecen de características patogénicas (USDA, 1995; EPA, 1996a). Asimismo, no existen características patogénicas o perjudiciales para la salud humana o animal relacionadas con los genes *cry*1F, *pat* o *cp4 epsps* o con los elementos asociados utilizados para regular su expresión en la línea de eventos acumulados 1507xNK603 (USDA, 1995; EPA, 1995a; EPA, 1995b; EPA, 1996a; EPA, 1997).

Elementos genéticos y regulatorios aislados de los organismos detallados a continuación, fueron utilizados en la generación de los eventos TC1507 y NK603: *Zea mays* L., *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai, Agrobacterium tumefaciens*, Virus del Mosaico de la Coliflor, *Agrobacterium sp.* y *Streptomyces viridochromogenes*.

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

Ver punto (c)

c) Especificación de la existencia de especies sexualmente compatibles

El genero *Zea* incluye además del maíz otras especies silvestres conocidas colectivamente como teocintles. Los teocintles presentes en México son: *Zea diploperennis* y *Zea perennis*, dos especies perennes que se encuentran localizadas en el estado de Jalisco. Además existen subespecies de *Zea Mays*, *Zea mays spp, mexicana*, un teocintle silvestre anual ampliamente distribuido en las regiones altas del centro de México y el *Zea mays spp. parviglumis*, un teocintle silvestre del sur y occidente de México (Figura 1). Existen otros teocintles silvestres: *Zea luxurians* y *Zea mays spp huhuetenangensis*, sin embargo estos no se han reportando en México. Todos los teocintles con excepción del tetraploide *Z. perennis* pueden cruzarse con el maíz para formar híbridos fértiles (Wikes, 1977, Doebley, 1990). Sin embargo estudios recientes indican que la dirección de la polinización en su gran mayoría es del teocintle (spp. *mexicana*) hacia el maíz (Baltasar et al, 2005) debido a la presencia de barreras genéticas de incompatibilidad (Evans y

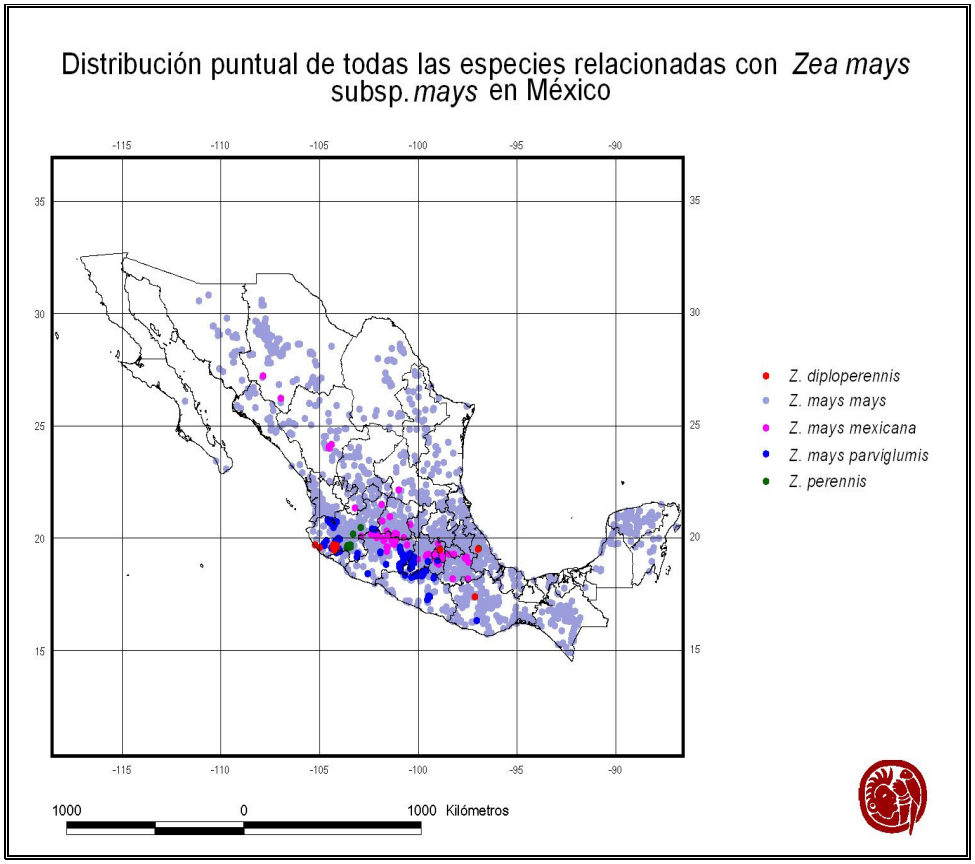
Kermicle, 2001) y factores físicos de las plantas de teocintle los cuales no permiten que el polen de maíz polinicen los estigmas del teocintle

Tabla 1. Lista de especies emparentadas con el maíz. Poblaciones de teocintle en México y Guatemala que rara vez se presentan en un solo lugar= ● Indeterminada= ■ Estable= ▲ Poca= ◯ . Fuente: Garrison H.1995.

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

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

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



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

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

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

La evidencia molecular reciente ha confirmado que existe algo de flujo genético limitado entre el maíz y el teocintle lo cual puede ocurrir en cualquier dirección, pero que se presenta a

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

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

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

Bajo condiciones climáticas adecuadas o mediante el aporte del riego, el maíz es muy productivo, y aunque es originaria de zonas semiáridas, las variedades mejoradas actuales sólo resulta rentable cultivarlas en climas con precipitaciones suficientes o bien en regadío. Puede crecer en zonas desde el nivel del mar hasta los 4000 metros, en una gran variedad de suelos. Requiere un clima relativamente cálido y agua en cantidades adecuadas; la mayoría se cultivan en regiones de temporal, de clima caliente y de clima subtropical húmedo. En temporal se siembra de abril a junio y su desarrollo se prolonga hasta agosto o septiembre.

Sin embargo al ser el maíz una planta altamente domesticada, esta no puede proliferar sin los cuidados necesarios que requiere como cultivo.

e) Descripción taxonómica del organismo receptor y donador de la construcción genética

<u>Organismo receptor</u>

Nombre Común; Maíz
Nombre Científico; *Zea mays*
Clase: Angiosperma
Subclase; Monocotiledónea
Orden; Graminales
Familia: Poaceae
Subfamilia: Panicoideae
Tribu: Maydeae
Genero: Zea
Especie: mays

El maíz (*Zea mays* L.) es una especie monocotiledónea anual que pertenece al genero *Zea*. A diferencia de los demás cereales, es una especie monoica, lo que significa que sus inflorescencias, masculina y femenina, se ubican separadas dentro de una misma planta por lo que tiene la

capacidad de autofecundarse y de efectuar polinización cruzada. Por consiguiente, existe la posibilidad de que la diseminación de genes se lleve a cabo vía el cruzamiento con otras parcelas de maíz cultivado o con especies silvestres.

Organismos donadores

Nombres Científicos: *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*
Streptomyces viridochromogenes
Agrobacterium tumefaciens.
Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV).
Streptomyces viridochromogenes.
Arroz.
Arabidopsis thaliana.
Agrobacterium sp. Cepa CP4.

Las secuencias genéticas obtenidas de los organismos donantes presentes en la línea de eventos acumulados 1507xNK603 carecen de características patogénicas (USDA, 1995; EPA, 1996a). Asimismo, no existen características patogénicas o perjudiciales para la salud humana o animal relacionadas con los genes *cry*1F, *pat* o *cp4 epsps* o con los elementos asociados utilizados para regular su expresión en la línea de eventos acumulados 1507xNK603 (USDA, 1995; EPA, 1995a; EPA, 1995b; EPA, 1996a; EPA, 1997).

Elementos genéticos y regulatorios aislados de los organismos detallados a continuación, fueron utilizados en la generación de los eventos TC1507 y NK603: *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai, Streptomyces viridochromogenes*, *Agrobacterium tumefaciens*, Virus del Mosaico de la Coliflor, *Agrobacterium sp.* y

Bacillus thuringiensis (*Bt*) es un grupo diverso de bacterias Gram-positivas, formadoras de esporas, descubierto por primera vez en Japón en 1901, en gusanos de seda enfermos. Se han utilizado numerosas variedades de *B. thuringiensis* como insecticidas microbianos desde 1938 (Merrit, 1998). La subespecie *aizawai* se utiliza comercialmente para controlar las larvas de *Galleria mellonella* y varias orugas, especialmente la polilla de las crucíferas *Plutella xylostella* ("Cornell University, 1996"). El gen *cry*1F fue aislado del *B.thuringiensis* var. *aizawai*.

Streptomyces viridochromogenes es una bacteria común del suelo (OECD, 1999) que produce el tripéptido L-fosfinotricil-L-alanil-alanina (L-PPT), un herbicida no selectivo. El gen *pat*, que confiere tolerancia al tripéptido, también se identificó y caracterizó en *S. viridochromogenes.*

El Virus del Mosaico de la Coliflor es un caulimovirus de ADN con un rango de huéspedes principalmente restringido a plantas crucíferas (Base de datos ICTV, 1998). Las secuencias de ADN que se originan a partir del Virus del Mosaico de la Coliflor, el promotor 35S y el terminador, no presentan características patogénicas (USDA, 1995).

El arroz (*Oryza sativa*) no es un organismo patogénico y su domesticación como cultivo agrícola, al igual que el maíz es de larga historia (FAO, 2004).

Arabidopsis thaliana es una especie vegetal considerada como modelo en estudios de investigación de plantas (Meinke *et al*., 1998), no es un organismo patogénico.

Agrobacterium tumefaciens. Bacteria comúnmente encontrada en el suelo; no se considera patogénica para humanos y animales (Valentine, 2003)

Las características de *Agrobacterium* sp. CP4 se encuentran en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

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

Todos los experimentos de transformación y construcción genética del evento DAS-01507-1 desarrollados en los laboratorios de las empresas Pioneer Hi-Bred International ubicada en 7100 NW 62nd Ave. P.O. Box 1014, Johnston, I.A. U.S.A. y Mycogen Seeds c/o Dow AgroSciences. LLC, ubicada en 9330 Zionsville Road, Indianápolis, I.N. U.S.A.

El evento de transformación MON-00603-6 fue desarrollado por Monsanto Company. Información sobre el lugar de desarrollo del evento se encuentra en en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

g) Referencia documental sobre origen y diversificación del organismo receptor

Aylor, D., Baltasar, M.B. and Schoper J. 2005. Some physical properties of Teosinte (*Zea mays* subs. *Parviglumis*) Pollen. J. Exp Bot 56:2401-2407 .

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

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

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

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

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

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

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

No se utilizó ningún vector en la transformación del maíz para generación del evento DAS-01507-1. Del plásmido PHI8999 se extrajo un fragmento lineal de ADN, denominado PHI8999A, que

contenía las secuencias de codificación *cry1F* y *pat* junto con sus elementos asociados de expresión génica. Esta porción lineal de ADN, denominada inserto, se utilizó en el proceso de transformación.

Los resultados de la caracterización molecular del evento TC1507 confirman que el maíz DAS-01507-1 contiene una región truncada del inserto de DNA usado en la transformación (esto es 6186 pb de las 6235 pb del fragmento del inserto PHI8999A que contiene los genes cry1F y pat) y un numero limitado de rearreglos secuenciales no funcionales ligados al inserto truncado. La tabla 2 describe detalladamente los elementos genéticos del plásmido PHI8999.

El gen *cry1*F (gen que proporciona resistencia a insectos)

La proteína con propiedades insecticida motivo de esta solicitud es una proteína Cry1F truncada derivada de la cepa PS81I (NRRL B-18484) de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*. La versión sintética truncada del transgen *cry*1F optimizada para ser utilizada en plantas se utilizo para transformar la planta de maíz, resultando en expresiones del gen, en plantas transgénicas, a niveles suficientes para el control del gusano barrenador Europeo (*Ostrinia nubilalis*) (ECB). La descripción completa de los elementos genéticos de la construcción genética de *cry*1F, incluyendo los elementos de expresión y los marcadores selectivos se presentan en la Tabla 2.

El gen *pat* (gen selectivo y resistente a glufosinato)

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

La expresión de la proteína PAT confiere tolerancia a aplicaciones totales del herbicida glufosinato de amonio el cual puede utilizarse para realizar un control de malezas más eficiente. La enzima PAT cataliza la conversión de fosfonitrocina-L, el ingrediente activo de glufosinato de amonio, a una forma inactiva y por lo tanto desintoxica el herbicida glufosinato de amonio.

Tabla 2. Elementos genéticos del plásmido PHI8999

Elemento Genético	Tamaño (kb)	Función
*ubi*ZM 1(2)	1.98	El promotor ubiquitin (además del intron y la región 5' no-transcrita del gen ubiquitin de maíz) de *Zea mays* (Christensen *et al*., 1992)
cry1F (trunc)	1.82	Versión sintética truncada del gen cry1F de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (optimizada en planta)
ORF25PolyA	0.72	Terminador de *Agrobacterium tumefaciens* pTi1595*5*
Promotor CaMV 35S	0.55	Promotor 35S del Virus del Mosaico de la Coliflor (Odell *et al.,* 1985)
pat	0.55	Gen sintético para resistencia a glufosinato (optimizado en planta), basado en el gen de acetil-fosfotransferasa de *Streptomyces viridochromogenes* (Eckes *et al*., 1989)
Terminador CaMV 35S	0.20	Terminador 35S del Virus del Mosaico de la Coliflor
nptII	0.81	Gen tipo II Neomycin-fosfotransferasa que confiere Resistencia a la kanamicina. El gen esta bajo control de promotores de bacteria que no se expresan en plantas.
ori-pUC19	2.87	Origen de replicación del plásmido pUC19 derivado de la bacteria *E. coli* pMB1 (ColE1 y pBR322). (Yanisch-Perron, *et al*., 1985).

La información relacionada con el Evento NK603 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

i) 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

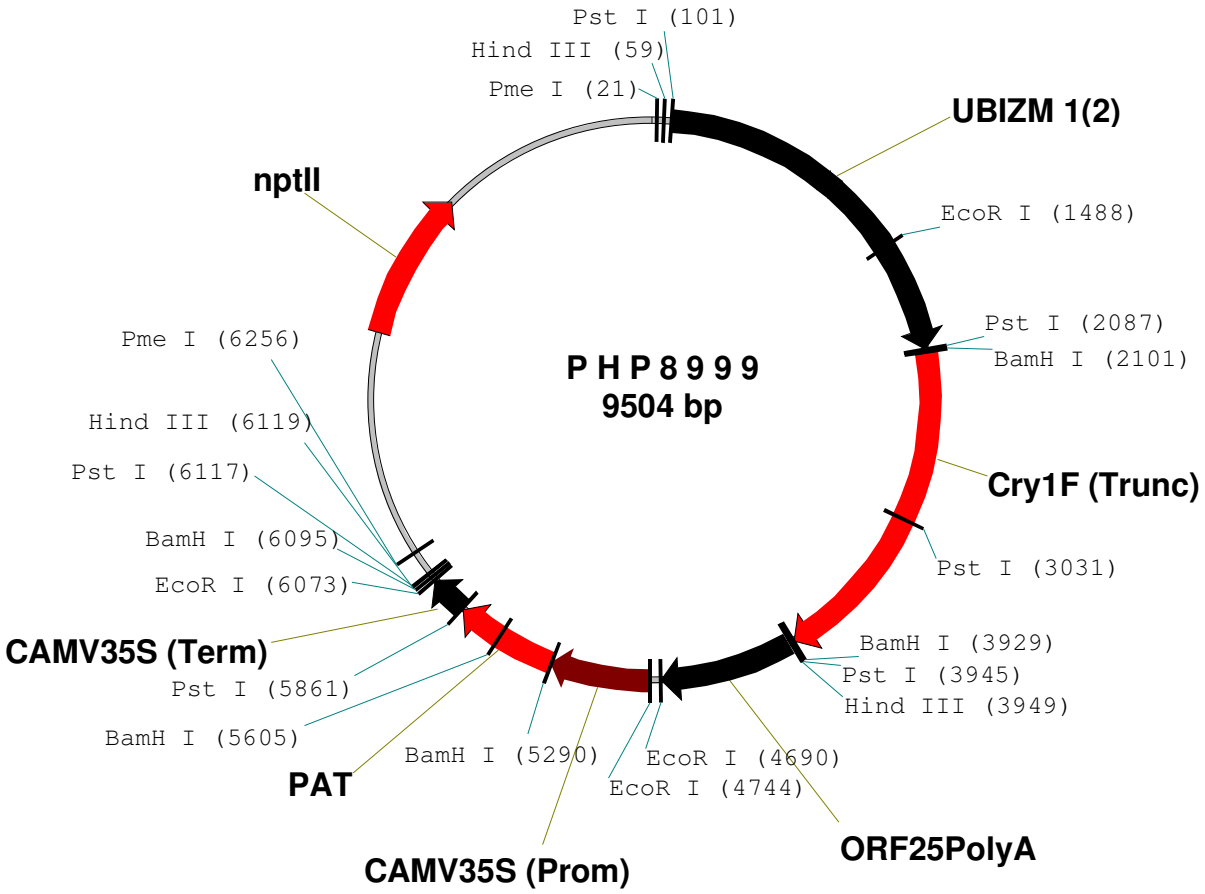


Figura 2. Plásmido PHP8999

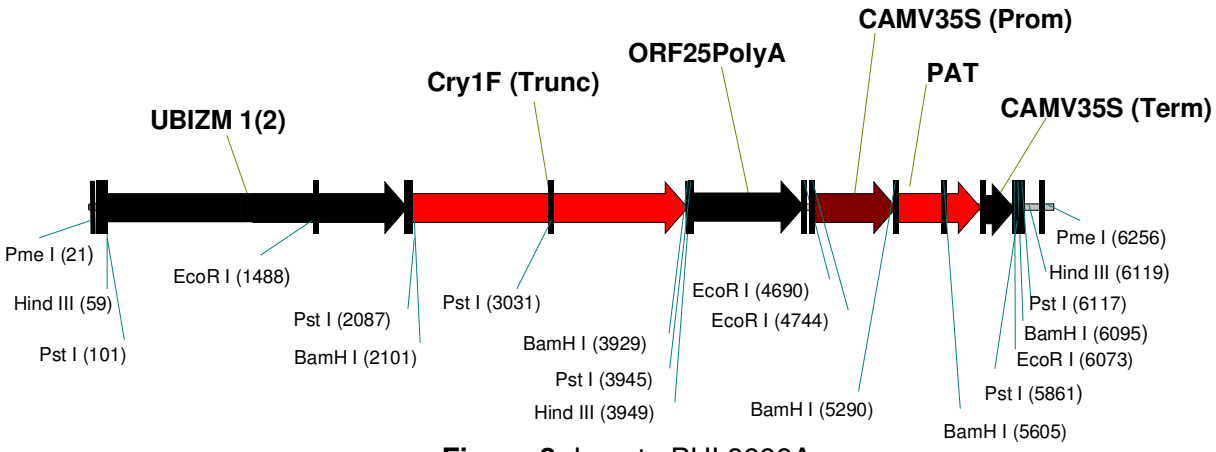


Figura 3. Inserto PHI 8999A

El gen *cry1*F (gen que proporciona resistencia a insectos)

La proteína con propiedades insecticida motivo de esta solicitud es una proteína Cry1F truncada derivada de la cepa PS81I (NRRL B-18484) de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*. La versión sintética truncada del transgen *cry*1F optimizada para ser utilizada en plantas se utilizo para transformar la planta de maíz, resultando en expresiones del gen, en plantas transgénicas, a niveles suficientes para el control del gusano barrenador Europeo (ECB)

Breve reseña de la δ-Endotoxina de Bacillus thuringiensis y diseño del transgen

Bacillus thuringiensis (Bt) es una bacteria formadora de esporas del grupo Gram-positiva, mejor conocida por ser una bacteria que se utiliza en la producción de importantes bio-pesticidas agrícolas. Un tipo de proteínas Bt con características insecticidas es la δ-endotoxina. Avances en Biotecnología agrícola han hecho posible la expresión de la toxina en plantas transgénicas, por consiguiente, proporcionando la característica de resistencia a insectos a un gran número de cultivos importantes (Prieto-Samsonov et al., 1997).

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

El gen *pat* (gen selectivo y resistente a glufosinato)

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

Herencia Mendeliana

Los resultados del análisis de la segregación Mendeliana proporcionan evidencias de la herencia estable del material genético introducido (Tabla 4)

Tabla 3. Segregación Mendeliana de la línea *Bt* Cry1F 1507.

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

[1] Los datos están expresados como el número de plantas resistentes al glufosinato: número de plantas susceptibles al glufosinato.
[2] Significante al nivel alfa = 0.05

Expresión de los genes insertados

Durante el ciclo 1998/1999 se realizo un estudio de campo en Chile para generar hojas, polen, jilote, tallo, planta completa, grano y planta total en estado de senescencia de la línea DAS-01507-1 y un control equivalente. Los niveles de las proteínas Cry1F y PAT en estos tejidos fueron medidos utilizando el método de ELISA (Ensayo de Enzima de Inmunoabsorvencia Ligado) desarrollado para cada proteína. El estudio fue realizado en cuatro sitios localizados en cuatro de las más importantes zonas maiceras de Chile. La localización de los experimentos fue cerca de Buin, Viluco, Graneros y Nancagua. Estas cuatro localidades se pueden comparar con localidades de Estados Unidos donde las líneas de maíz van a ser productos comerciales.

Expresión de la proteína Cry1F

Las concentraciones de proteína Cry1F cuantificadas en ELISA fueron expresadas en pg/µg de proteína total y los resultados son resumidos en la Tabla 5. El análisis demuestra que la expresión

de la proteína Cry1F se encuentra en niveles mediales en todas las muestras analizadas. La expresión de la proteína Cry1F estuvieron por debajo de los límites detectables en los testigos.

Tabla 4. Resumen de los niveles de la proteína Cry1F determinados en tejido de plantas de la línea de maíz híbrida 1507

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

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

Expresión de la proteína PAT

Las expresiones de la proteína PAT fueron expresadas en pg/µg de proteína total y los resultados se presentan en la Tabla 6 Los niveles de expresión de la proteína PAT fueron solamente detectados en cantidades medibles en muestras de hoja. Los niveles de expresión de la proteína PAT estuvieron por debajo de los valores de detección en todas las muestras de tejidos de los testigos, sin embargo hemos confirmado que la expresión de la proteína en todos los tejidos es expresada en cantidades suficientes para conferir tolerancia a aplicaciones totales del herbicida glufosinato.

Tabla 5. Resumen de niveles de proteína PAT medidos en tejido colectado de la línea de maíz híbrida 1507

Tejido	**Media[1] PAT (pg/µg proteína total)**	**Desviación estándar**	**Rangos min/max**
Hoja	<LOD[2]	NA[3]	<LOD – 40.8
Polen	<LOD	NA	<LOD
Jilote	<LOD	NA	<LOD
Tallo	<LOD	NA	<LOD
Planta Total	<LOD	NA	<LOD
Grano	<LOD	NA	<LOD
Planta total Senesciendo	<LOD	NA	<LOD

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

[2] <LOD = abajo de los niveles de detección, LOD = <20 pg/µg proteína total

[3] NA = no aplica.

La información relacionada con el Mapa del plásmido PV-ZMGT32 y el Mapa lineal de PV-ZMGT32L del evento MON-00603-6 asi como la información relacionada con la expresión de proteínas CP4 EPSPS y la Secuencia de aminoácidos deducida de la proteína CP4 EPSPS del evento MON-00603-6, se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

j) Descripción del método de transformación

Para transformar el tejido de maíz se utilizo una porción linear de ADN contenida en el plásmido PHP8999. En la secuencia linear de ADN se localizan, el gen *cry1F*, la secuencia codificadora *pat*, y los componentes regulatorios necesarios para la expresión del gen. La descripción completa del plásmido PHP8999 (9504bp), del cual se obtuvo el inserto se presenta en la Tabla 2 y el mapa genético del plásmido PHP8999 se ilustra en la Figura 8. El inserto PHI8999A de 6.2 kb utilizado en la transformación se obtuvo mediante la digestión del plásmido PHP8999 con la enzima de restricción *Pme*I (Figura 7).

Plantas de maíz *Bt* Cry1F fueron obtenidas a través del método de bombardeo de microproyectiles usando la pistola de genes Biolistics® PDS-1000He manufacturada por Bio-Rad, prácticamente como lo describe Klein *et al*. (1987). El primer paso consistió en colocar embriones inmaduros aislados de maíz cosechados después de la polinización por varios días en medio para propiciar la formación de callo. El mismo día que se realizo la transformación, partículas microscópicas de tugsteno fueron impregnadas con ADN purificado de PHI8999A y bombardeado sobre los cultivos de embriones, donde el inserto de ADN fue incorporado en los cromosomas de las células. Solamente se utilizo el ADN de PHI8999A durante el proceso de transformación. Después del bombardeo, los embriones fueron transferidos al medio de cultivo, que contenía glufosinato, como agente de selección para la iniciación de la formación de callos y que permitiera seleccionar plantas transformadas. Los embriones fueron mantenidos individualmente bajo condiciones de esterilidad y la gran mayoría de las plántulas murieron en el medio selectivo por efecto del glufosinato.

Los embriones que sobrevivieron y produjeron callos resistentes al glufosinato se les asigno una identificación especial codificada los cuales representaban eventos con el gen de interés, y fueron transferidos frecuentemente a medio fresco de selección. Las plantas fueron regeneradas de tejido de cada evento en particular y transportadas al invernadero. Para confirmar la presencia y la expresión del gen se corrieron muestras de tejido de las plantas mediante PCR y ELISA, respectivamente. Las plantas fueron después expuestas a pruebas *in vivo* usando larvas del gusano barrenador Europeo (ECB). Las plantas positivas para la presencia y expresión del gen *cry*1F fueron cruzadas con líneas homozigotas para obtener semilla de las plantas inicialmente transformadas. Un gran número de plantas fueron evaluadas en campo. La línea 1507 fue seleccionada por sus características agronómicas y su excelente resistencia al gusano barrenador Europeo (ECB) y algunas otras especies de insectos lepidópteros.

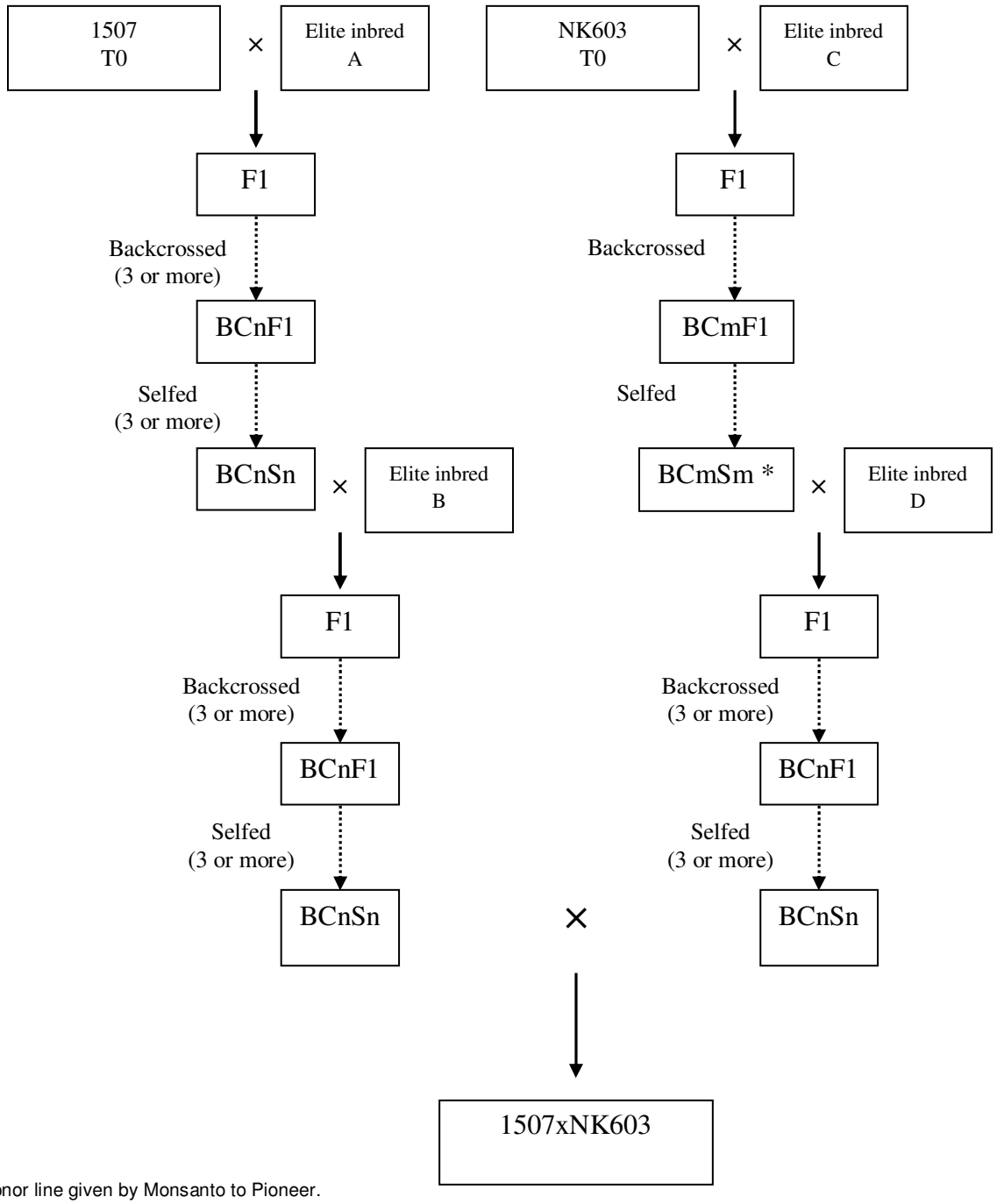
El evento con líneas acumuladas 1507xNK603 ha sido obtenido por métodos tradicionales de mejoramiento mediante la cruza de las dos líneas de maíz genéticamente modificadas mencionadas. No se introdujo ninguna modificación adicional en la línea 1507xNK603.

El germoplasma utilizado como receptor inicial de los genes agregados que generó el evento TC1507 es una línea de maíz disponible públicamente denominada Hi-II. La línea Hi-II es un cruzamiento entre las líneas de maíz endogámicas A188 y B73. Se trata de líneas endogámicas disponibles públicamente desarrolladas por la Universidad de Minnesota y por la Universidad del Estado de Iowa, respectivamente. El material “Hi-II” se desarrolló con el propósito de obtener un potencial de regeneración más elevado durante las etapas de cultivo de tejidos, pero no presenta un rendimiento comercial aceptable.

En el caso del evento NK603 el receptor fue la línea de maíz endogámica obtenida del cruzamiento LH82 x B73.

La línea de eventos acumulados 1507xNK603 se creó mediante el cruzamiento convencional de materiales de maíz que contienen ambos eventos originales.

Figura 4. Diagrama de desarrollo para el 1507xNK603.



* Donor line given by Monsanto to Pioneer.
Note: "n" of BCnF1 and BCnSn means n □3.
"m" of BCmF1 and BCmSm is determined by the Monsanto breeding program

k) 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

Ver inciso (i) No hay evidencia de efectos no esperados

Información relacionada con el Evento NK603 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

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

La modificación genética con el gen *cry*1F y *pat* a la linea DAS-01507-1, no altera la expresión de los componentes existentes en la planta.

La información relacionada con el Evento NK603 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

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

No existen subproductos significantes que se deriven de la degradación de la proteína codificada por el transgen.

n) Patogenicidad o virulencia de los organismos donadores y receptores

La fuente del gen cryIF es *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), un grupo diverso de bacterias formadoras de esporas Gram positiva. Las proteínas *Bt* han sido utilizadas por varios años en Agricultura para el control de insectos. **Las proteínas *Bt* han demostrado ser específicas para el control de ciertas especies lepidópteras, pero no toxicas a humanos o animales.** Estudios han demostrado que tres serotipos de *Bt* son patógenos oportunistas en ratones después de haber sido expuestos a inhalación (Hernandez, *et al*., 1999). Sin embargo mutantes de estos serotipos que no produjeron la proteína cristalina fueron también patogénicos, lo cual confirma que la proteína cristalina *Cry*1F no fue funcionalmente ligada a la patogenicidad de estos serotipos.

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

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

El potencial alergénico de los productos de los genes fue analizada comparando la homología de las proteínas Cry1F y PAT con secuencias de alergénicos (Meyer, 1999) usando métodos aceptados (Meyer, 1999). No se encontró significante homología con alergénicos conocidos. Una conclusión similar fue determinada previamente para la proteína PAT (Van Wert, 1994). Ni *B. thuringiensis* (la fuente del gen *cry1F*) ni *S. viridochromogenes* (la fuente del gen *pat*) tienen historial de causar alergias. En casi 30 años de uso comercial, no habido reportes de alergenicidad de *Bacillus thuringiensis,* incluyendo alergias ocupacionales incluyendo alergias asociadas con la elaboración de los productos conteniendo *Bt* (EPA, 1995). Estas formulaciones se han utilizado en un gran número de cultivos, incluyendo vegetales frescos, sin ningún reporte de alergenicidad. Esto establece las bases para determinar la falta de alergenicidad de la proteína Cry1F

Los genes *cry*1F, *pat* y *cp4 epsps* presentes en la línea de maíz 1507xNK603 no codifican alérgenos conocidos, y ni la proteína Cry1F ni la proteína PAT ni la proteína CP4 EPSPS comparten secuencias inmunológicamente significativas de aminoácidos con alérgenos conocidos. Estos resultados, junto con la rápida ruptura de estas proteínas en condiciones digestivas, permiten concluir que las proteínas Cry1F, PAT y CP4 EPSPS no presentan ningún riesgo alergénico significativo. No existen pruebas de que las proteínas Cry1F, PAT o CP4 EPSPS puedan potencialmente provocar reacciones alérgicas al ser consumidas directamente con el grano, o a partir de sus productos derivados presentes en los alimentos o forraje **(Ver Anexo II. Opinion of the scientific panel. EFSA)**

- Ninguno de los organismos donantes: *Bacillus thuringiensis, Streptomyces viridochromogenes*, o *Agrobacterium sp*, poseen antecedentes como factores causantes de alergia.
- Los genes *cry*1F, *pat* y *cp4 epsps* que se encuentran en la linea de maíz 1507xNK603 no codifican alérgenos conocidos.
- Ninguna de las tres proteínas comparte una homología significativa de secuencia de aminoácidos con proteínas alergénicas conocidas (dado que la estructura proteica es una de las principales causantes de alergia).
- Las tres proteínas son fácilmente degradables en fluido digestivo simulado y absorbidas rápidamente en el estómago como aminoácidos.

El evento con líneas acumuladas 1507xNK603 ha sido obtenido por métodos tradicionales de mejoramiento mediante la cruza de dos líneas de maíz genéticamente modificadas. No se introdujo ninguna modificación adicional en la línea 1507xNK603: para analizar la seguridad del maíz 1507xNK603, se efectuaron análisis “Southern” para mostrar la equivalencia entre las líneas 1507, NK603 y 1507xNK603. Adicionalmente los análisis proximales (proteína cruda, grasas, carbohidratos y cenizas) fueron determinados para el evento 1507xNK603 y el control modificado. En ambos casos, el maíz 1507xNK603 mostró ser equivalente a las líneas 1507, NK603 y la versión no modificada (control).

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

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

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

de aplicaciones foliares del herbicida. Más detalles en este tema se puede encontrar en el documento concentrado acerca de los genes y sus proteínas que confieren tolerancia al herbicida fosfinotricina publicado por el OECD (OECD, 1999).

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

Ver inciso también (j)

Los resultados del análisis de la segregación Mendeliana proporcionan evidencias de la herencia estable del material genético introducido. Estos resultados indican que el evento TC 1507 es una inserción estable y es heredada en forma Mendeliana como un gen dominante. Análisis Southern indicaron que el gen parcial *cry*1F esta presente en plantas de la retrocruza BC4 y esto apoya la conclusión que dicho gen esta ligado a copias completas de los genes *cry*1F y *pat* presentes en la línea de maíz Bt Cry1F 1507. Análisis adicionales Southern de aproximadamente 20 plantas de una serie de líneas homocigotas confirmaron que ambas copias del gen *cry*1F están presentes en las plantas utilizadas en la prueba.

Información relacionada con el Evento NK603 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

q) Referencias bibliográficas de los datos presentados

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

FDA (Food and Drug Administration). 1992. U. S. Food and Drug Administration. Statement of policy: foods derived from new plant varieties. Fed. Reg. (USA) 57:22984-23005.

Galinat, W.C. 1988. Palomero Toluqueno and certain Andean maize carry the short rachillae and reduced cupule traits probably descended from an independent domestication of teosinte. MNL 62:111

Glatt, C.M. 1999. *Phosphinothricin acetyltransferase (PAT) protein: In Vitro Digestibility Study* (Proteína fosfinotricina acetiltransferasa (PAT): Estudio de digestibilidad *in vitro*). Report number DuPont 3365, an unpublished technical report by E.I. du Pont de Nemours and Company.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

La liberación se pretende realizar en campos de agricultores cooperantes bajo la supervisión de investigadores internos (de las compañias) asi como de ionvestigadores reconocidos de INIFAP u otras instituciones y se seguirán los protocolos de experimentación que se presentan en los **anexos III, IV y V.**

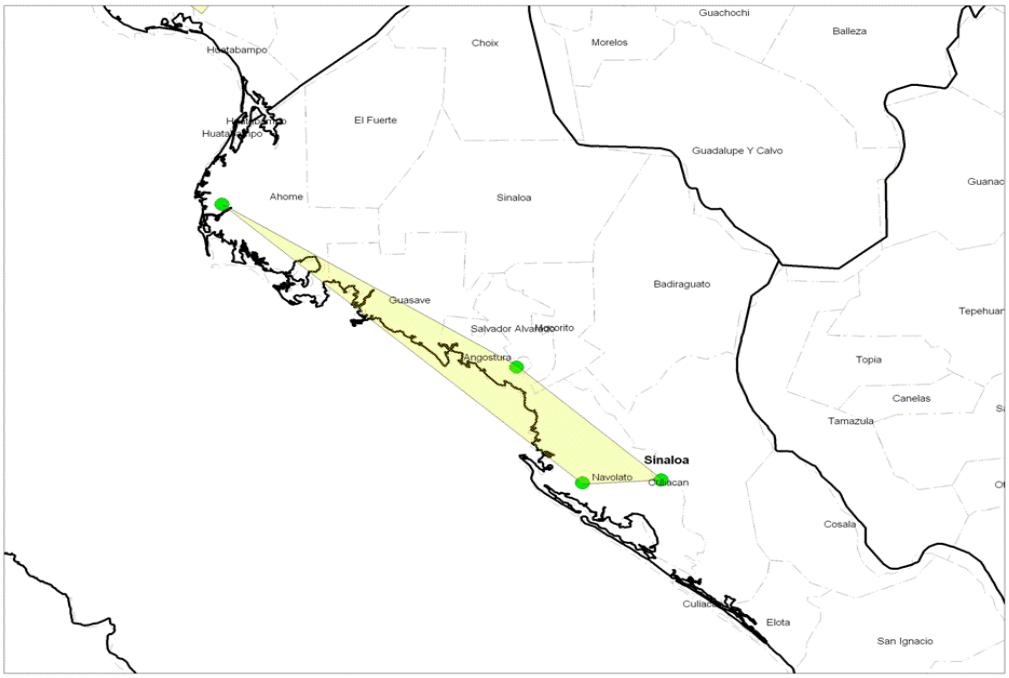
a) Superficie total del polígono o polígonos donde se realizara la liberación

El poligono se describe en el inciso c abajo

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

Estado	Localidad	Coordenadas	
Sinaloa	Los Mochis	25.90639	-109.33596
	Valle de Culiacán	24.680553	-107.450349
	La Angostura	25.182353	-108.070566
	Navolato	24.6682	-107.787359

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:



1. **Listado de especies sexualmente compatibles y de las especies que tengan interacción en el área de liberación y en zonas vecinas a éstos, incluir que especies se encuentran en las zonas potenciales de liberación si es que se cuenta con esa información**

SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACION

ACUERDO por el que se publican las conclusiones contenidas en los estudios del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y de la Dirección General de Impacto y Riesgo Ambiental (DGIRA), para determinar los centros de origen y centros de diversidad genética de maíz en el territorio de los Estados Unidos Mexicanos.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

JOSE LUIS LUEGE TAMARGO, Secretario de Medio Ambiente y Recursos Naturales y FRANCISCO JAVIER MAYORGA CASTAÑEDA, Secretario de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, con fundamento en los artículos 32 bis, 35 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4 de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; 2 fracción XI, 3 fracciones VIII y IX, 86, 87 y 88 de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, y

CONSIDERANDO

Que, el 18 de marzo de 2005, se publicó en el Diario Oficial de la Federación el Decreto mediante el cual el Ejecutivo Federal promulga la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, en la que se establece que las especies de las que los Estados Unidos Mexicanos sea centro de origen y de diversidad genética así como las áreas geográficas en las que se localicen, serán determinadas conjuntamente mediante acuerdos por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

Que en razón de lo anterior se publican las conclusiones contenidas de los estudios del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), de la Dirección General de Impacto y Riesgo Ambiental (DGIRA), que realizaron atendiendo consideraciones técnicas del Instituto Nacional de Ecología (INE), de la Comisión

Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO), y de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR), a través del siguiente:

PRIMER ACUERDO

PRIMERO.- De los estudios efectuados por los grupos de trabajo de DGIRA e INIFAP, para determinar los centros de origen y centros de diversidad genética de maíz en el territorio de los Estados Unidos Mexicanos, se obtuvieron como resultados los siguientes:

a. *Diversidad genética*. Este criterio se estableció considerando la diversidad de razas identificadas en base a las colectas realizadas en los diferentes estados del territorio nacional. Se identificaron 47 razas de maíces criollos, aunque algunos autores consideran un número mayor y los estados que mostraron mayor diversidad de razas fueron: Chiapas, Chihuahua, Durango, Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Michoacán, Nayarit, Puebla, San Luis Potosí, Sinaloa, Veracruz y Zacatecas. Por otro lado también se tiene que las razas criollas más frecuentes fueron: Tuxpeño, Cónico y Tabloncillo.

b. *Parientes silvestres*. Teocintle se encuentra distribuido principalmente en los estados de: Estado de México, Guerrero, Jalisco, Michoacán y mientras que Tripsacum se distribuye sobre todo en los estados de Chiapas, Guerrero, Jalisco y Nayarit.

c. *Domesticación*. Las publicaciones que relacionan hallazgos arqueológicos y los derivados de análisis de genética molecular, apoyan la hipótesis de que uno de los centros de domesticación del maíz es la región comprendida entre Tehuacán, Puebla y Oaxaca

d. *Información de los Distritos de Riego*. Para la definición de los centros de origen y diversidad genética de maíz en los campos experimentales del INIFAP: Valle del Yaqui, Valle del Fuerte, Valle de Culiacán, Río Bravo y Sur de Tamaulipas, además de considerar las diferentes fuentes de información que existen sobre este tema, se tomaron en cuenta la información de los Distritos de Riego (superficies y materiales comerciales sembrados).

e. *Concepto de actualidad*. Para propósitos de distribución geográfica de maíces criollos y parientes silvestres se considera que el germoplasma que se conserva ex situ es semilla botánica viable que se considera como una extensión de las plantas que fueron colectadas y representa parte de la variabilidad genética existente al día de hoy en las zonas en las que fueron colectadas.

En razón de lo anterior se indicó que:

1. Existieron varios centros de origen del maíz en el territorio de los Estados Unidos Mexicanos.

2. Los centros de origen del maíz están ubicados en la región Mesoamericana de los Estados Unidos Mexicanos.

3. Los centros de diversidad genética de los maíces nativos en los Estados Unidos Mexicanos se ubican en la Sierra Madre Occidental y Sierra Madre Oriental a altitudes que varían de 500 a 3,000 metros sobre el nivel del mar (msnm); las regiones de altitud intermedia (tipo Bajío) de 1,000 a 1,800 msnm; en las mesetas de Valles Altos de Norte, Centro y Sur de 1,800 a 2,500 msnm, y en el Litoral de la región Mesoamericana de 0 a 1,000 msnm.

4. Aun cuando es posible definir centros de origen y centros de diversidad genética a escala estatal y regional, se estima que se requiere de una mayor precisión respecto a sus dimensiones, con el objeto de delimitar cada uno de ellos, por lo cual se plantea la necesidad de realizar colectas de los maíces autóctonos y sus parientes silvestres, planeando su conservación in situ y ex situ a fin de identificar características con valor agregado y generar información adicional.

5. Actualmente no hay diversidad genética de maíz criollo en los distritos de riego de los estados de Sonora, Sinaloa y norte de Tamaulipas.

6. Los Campos Experimentales Valle del Yaqui, Valle del Fuerte, Valle de Culiacán, Río Bravo y Sur de Tamaulipas del INIFAP, al día de hoy no es posible considerarlos centros de origen porque:

a. Hasta la fecha no han sido detectados los parientes silvestres.
b. Las hipótesis sobre el origen del maíz refieren que proviene de alguna de las especies silvestres: Teocintle, Tripsacum y Maíz Tunicado. Actualmente ninguna de estas especies se encuentran en la vecindad de los Campos Experimentales señalados.
c. No existen datos históricos que evidencien que en estos lugares se llevó a cabo algún proceso de domesticación de alguna de dichas especies.

7. Los Campos Experimentales Valle del Yaqui, Valle del Fuerte, Valle de Culiacán y Río Bravo del INIFAP, al día de hoy no es posible considerarlos Centros de Diversidad Genética porque:

a) Estos campos experimentales están ubicados en Distritos de Riego.

b) Actualmente los terrenos que comprenden dichos Distritos se siembran con maíces híbridos, los cuales han desplazado a los maíces nativos (criollos) que constituían la reserva genética, que todavía la conformaban hasta la década de los setenta.
c) Los maíces nativos (criollos), así como las variedades han sido desplazados a las zonas de temporal.

8. El Campo Experimental Sur de Tamaulipas se ubica en una zona de Temporal, donde se encuentran híbridos y variedades de maíz, por lo que, en su caso, ante mayor información complementaria, podría considerarse Centro de Diversidad Genética de Maíz.

9. En concordancia con autores que proponen que la distribución de las razas antiguas: Chapalote, Palomero Toluqueño, Arrocillo y Nal-Tel, sea considerada como elemento válido e independiente para la definición de regiones donde se dio el proceso de domesticación y dado que estas razas, también están presentes en partes de los estados de Campeche, Quintana Roo, Sonora, Tlaxcala y Yucatán, se propone que éstas sean consideradas como regiones de domesticación. Esto implica que pudieron haber existido diferentes puntos de domesticación, ubicados en la región Mesoamericana de los Estados Unidos Mexicanos, porque la presencia de las razas antiguas: Nal-Tel en la Península de Yucatán, Chapalote en el noroeste y Palomero Toluqueño y Arrocillo en el centro del país, diferentes morfológicamente entre si, son el resultado inicial de este proceso, lo cual sugiere que existieron al menos cuatro centros de domesticación del maíz. Esta visión complementa, lo reportado por otros autores que han ubicado el centro de domesticación en México, de manera puntual entre Tehuacán, Puebla y Oaxaca.

10. La diversidad genética la han generado y aún es mantenida por las etnias de los Estados Unidos Mexicanos.

SEGUNDO.- Se ordena que se continúen los trabajos para el debido cumplimiento a lo dispuesto en la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados.

Firmado en la Ciudad de México, D.F., a 1 de noviembre de 2006.- El Secretario de Medio Ambiente y Recursos Naturales, José Luis Luege Tamargo.- Rúbrica.- El Secretario de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Francisco Javier Mayorga Castañeda.- Rúbrica.

2. Descripción geográfica



3. Plano de ubicación señalando las principales vías de comunicación

Ver inciso c anterior

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:

Literalmente miles de alimentos y productos industriales son derivados del maíz. El maíz o sus derivados no contienen riesgo alguno a humanos, animales domesticados o especies silvestres. El maíz es una de las fuentes alimenticias más importantes en todo el mundo.

La fuente del gen *cry*IF es *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), un grupo diverso de bacterias formadoras de esporas Gram positiva. Como se describe en el análisis de seguridad, las proteínas *Bt* han sido utilizadas por algunos años en la Agricultura para el control de insectos. Las proteínas *Bt* han demostrado ser específicas para el control de ciertas especies lepidópteras, peso no toxicas a humanos o animales. Estudios recientes han demostrado que tres serotipos de *Bt* son patógenos oportunistas en ratones después de haber sido expuestos a inhalación (Hernandez, *et al.*, 1999). Sin embargo mutantes de estos serotipos que no produjeron la proteína cristalina fueron también patogénicos, lo cual confirma que la proteína cristalina *Cry*1F no fue funcionalmente ligada a la patogenicidad de estos serotipos.

Las especies de *Bacillus thuringiensis* no tienen antecedente de causar alergias. En los casi 30 años de su uso comercial, no se han presentado reportes de alergenicidad a *Bt*, incluyendo alergenicidad ocupacional asociada con la elaboración de productos conteniendo *Bt* (EPA, 1995).

Las formulaciones microbianas a base de *Bt* han sido utilizadas en un gran numero de cultivos que incluyen, vegetales frescos, y hasta el momento no ha habido reportes de alergenicidad. Esta establece que la proteína CryIF no tiene riesgo de producir alergias.

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

El evento de Maíz GM es sustancialmente equivalente al maíz tradicional excepto por las características introducida.

a) Estabilidad de la modificación genética del OGM

Ver inciso (j) del apartado I.

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

Ver inciso (j) del apartado I.

La información relacionada con el Evento NK603 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

c) Características del fenotipo del OGM

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

En el caso del maíz con proteínas *Bt* se logran controlar algunos de los insectos plaga más severos del maíz. El evento acumulado 1507xNK603 de maíz contiene el evento de transformación TC1507, que expresa la proteína Cry1F proveniente de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai.* Este evento presenta un espectro más amplio de actividad que otros productos de maíz *Bt* disponibles actualmente. La proteína Cry1F que se expresa en el evento acumulado 1507xNK603 de maíz resulta altamente efectiva en el control del barrenador de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*) y del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda)*.

El gen *pat*, que codifica la enzima (PAT) fosfinotricina acetiltransferasa, se encuentra presente en el evento acumulado 1507xNK603 de maíz, y proporciona tolerancia a los herbicidas a base de glufosinato de amonio. La proteína PAT proporciona a los productores una herramienta alternativa para el control de malezas. El glufosinato de amonio presenta antecedentes de uso seguro como herbicida del maíz y no se conocen efectos ambientales o tóxicos adversos.

La información relacionada con los genes *cp4 epsps* del evento MON-00603-6, se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

Ver también inciso (e) abajo

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

Ninguna

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

La línea de maíz DAS-01507-1, resistente a ciertas especies de insectos lepidópteros, produce pequeñas cantidades de la proteína Cry1F. La proteína producida por el gen *cry*1F ha demostrado ser efectiva en el control de ciertas especies de gusanos lepidópteros en el estado larvario de crecimiento. A pesar de que los marcadores selectivos fueron introducidos a las células con el propósito de selección, las plantas regeneradas expresan tolerancia al glufosinato de amonio en comparación con plantas no transformadas.

La línea TC1507 ha sido sembrada en el campo desde 1997 en zonas maiceras de los Estados Unidos, Puerto Rico, Hawai, Colombia y Honduras. Los mejoradores de maíz han realizado ensayos de campo para monitorear resistencia a enfermedades manchas foliares o tizones (*Helminthosporium turcicum* y *Helminthosporium maydis*), roya del sur (*Puccinia polysora*), bacteria (*Erwinia stewartii*), y carbones (*Sphaceloteca reiliana* y *Ustilago maydis*) y insectos plaga (gusano elotero, gusano cogollero, chicharritas, afidos, araña roja, gusano barrenador) de la línea TC1507 y líneas no modificadas de maíces. No se observaron diferencias en resistencia a enfermedades y plagas (que no fueran los otorgados por el gen cry1F) entre las plantas de maíz DAS-01507-1 y el maíz sin el gen.

Ensayos de campo de la línea DAS-01507-1 conteniendo el gen *cry*1F con sus respectivos controles, fueron establecidos en regiones claves para la producción de maíz en los Estados Unidos durante 1999. En la tabla 7 se presenta un resumen de las observaciones de los ensayos. La expresión de la proteína Cry1F en líneas de maíz inhibió la alimentación del gusano barrenador del maíz, otras especies de lepidópteros y protegió a las plantas de perdidas de rendimiento por causa de los insectos. Estos resultados demuestran que no existen diferencias agronómicas entre líneas de maíz con el gen *cry*1F y líneas de maíz no modificadas, con excepción de la capacidad de las líneas de maíz con el gen *cry*1F de controlar ciertas especies de insectos lepidópteros.

Tabla 6. Comportamiento agronómico de la línea *Bt* Cry1F de maíz 1507.

Característica	Maíz Híbrido línea 1507	Híbrido Isogénico	Número de localidade	Número de reps	LSD[1]
Rendimiento (bushels per acre)	183.4	178.0	15	41	7.5
Húmedad (%)	18.8	18.6	15	41	0.07
Unidades calor acumuladas para alcanzar 50% de espigamiento (producción de polen)	1351	1353	4	12	18.4
Unidades calor acumuladas para alcanzar 50% de floración femenina (presencia de estigmas)	1343	1337	4	12	18.9
Densidad del grano[2]	58.3	58.2	9	27	0.7
Altura de planta (pulgadas)	99.3	98.4	9	19	2.7
Altura de la mazorca (pulgadas)	45.5	44.3	9	19	2.3
Establecimiento de las plantas en campo (promedio de plantas establecidas por parcela)	74.5	71.7	4	12	26.5
Calificación visual del vigor de lo planta desde la espiga a la primera hoja[3]	6.1	6.0	4	12	0.6
Calificación visual del vigor de lo planta en estado vegetativo cuando la planta tenía de tres a cinco hojas[3]	6.1	6.3	4	12	0.6
Acame de tallo[4]	0.3	0.6	11	33	0.8
Acame de raíz[4]	1.1	1.5	10	30	1.4
Mazorcas caídas por parcela	0.0	0.0	10	30	0.1
Integridad de la parte área de la planta. [5]	7.9	7.6	9	27	1.1

[1] Diferencia mínima significativa (LSD) al nivel estadístico del 0.05 %.
[2] Peso (en libra) de un bushel de grano con una humedad del 15.5%.
[3] Usando una escala visual de 1-9, donde 9 es el más bajo rango.
[4] Promedio de número de plantas por parcela que mostraron acame de tallo o de raíz, respectivamente.
[5] Usando una escala visual de 1-9 que describe que también los tallos se mantuvieron intactos arriba de la mazorca, donde 9 es el mejor.

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

Los resultados hasta ahora observados en experimentos establecidos en otros países no han demostrado efectos no esperados en el desarrollo del maíz GM. Las siembras experimentales en México pretenden entre sus diversos objetivos obtener información que proporcione a las Agencias Reguladoras indicativos para la toma de sus decisiones en correlación a los posibles efectos no esperados, así como su evaluación, estimación, manejo y prevención.

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.

Métodos de identificación evento específicos para este evento (**Ver Anexo VIII para descripción detallada)**

En primera instancia se utilizarán tiras reactivas específicas para la detección de la proteína CRY1F

Para el evento DAS-01507-1 x MON-00603-6 específico

Métodos para detectar el organismo en el medio ambiente.

Ensayo de ELISA para detectar proteínas.
Amplificación por PCR de las secuencias introducidas en la línea de eventos acumulados 1507xNK603.
Ensayos biológicos sobre plantas de maíz, con la línea de eventos acumulados 1507xNK603.

Métodos para detectar la transferencia del ácido nucleico donado.

Ensayo de ELISA para detectar proteínas.
Amplificación por PCR de las secuencias introducidas en la línea de eventos acumulados 1507xNK603.
Ensayos biológicos para detectar la transferencia del ADN donado.

Detección.

http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/TC1507-WEB-Protocol-Validation.pdf
http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/NK603-WEB-Protocol%20Validation.pdf
http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/DAS1507xNK603%20val_report.pdf

En los links se encuentran los protocolos para la detección del evento TC1507, NK603 y para los eventos acumulados TC1507xNK603 respectivamente

(Ver anexo VII para detalle de protocolos)

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

Estudios recientes indican que la planta de teocintle produce más polen/planta y es más pequeño (~60-70 micrones), comparado con el polen del maíz (Aylor et al. 2005; Baltazar, et al. 2005). Los estudios de Luna, Baltazar, Aylor y colaboradores sugieren que bajo condiciones de campo es más factible que el polen de teocintle polinice estigmas de maíz a que el polen del maíz polinice estigmas de teocintle. Estas observaciones se sustentan en la presencia de barreras genéticas presentes en poblaciones silvestres de *Zea mays* ssp. *Mexicana* (Evans and Kermicle, 2001) y a factores morfológicos de la planta de teocintles que previenen de ser polinizada por polen de maíz.

Durante las épocas de siembra y en las localidades propuestas, es probable que otras compañías semilleras o agricultores siembren maíz en los alrededores de las localidades donde se

ubican los sitios de los ensayos, existiendo la posibilidad de entrecruzamiento. Sin embargo debido a todas las medidas de bioseguridad que se utilizaran en los experimentos, se eliminará la posibilidad de transferencia de material genético de los ensayos a campos de agricultores locales.

Figura 5. El maíz pierde viabilidad rápidamente.

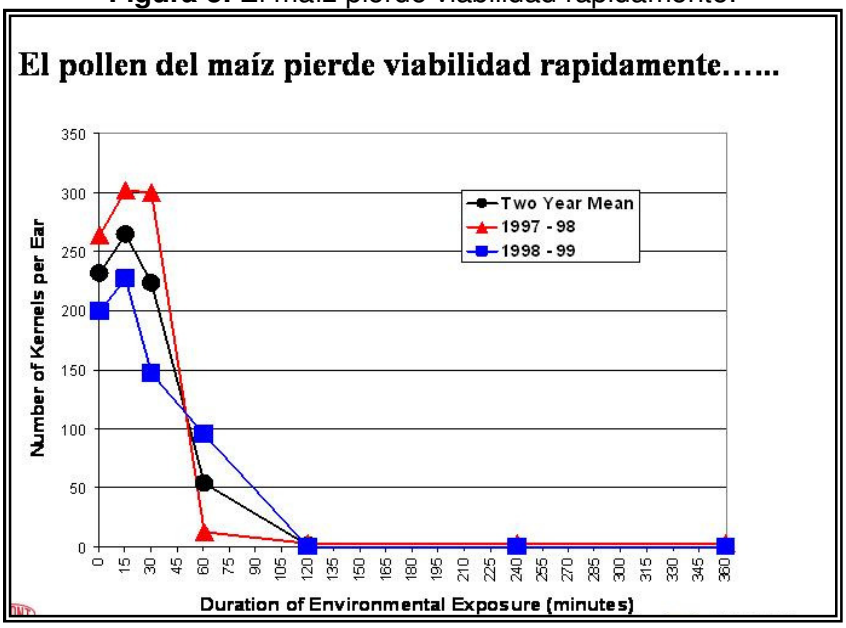


Figura 6. Polen y Estado Hídrico de la Atmósfera.

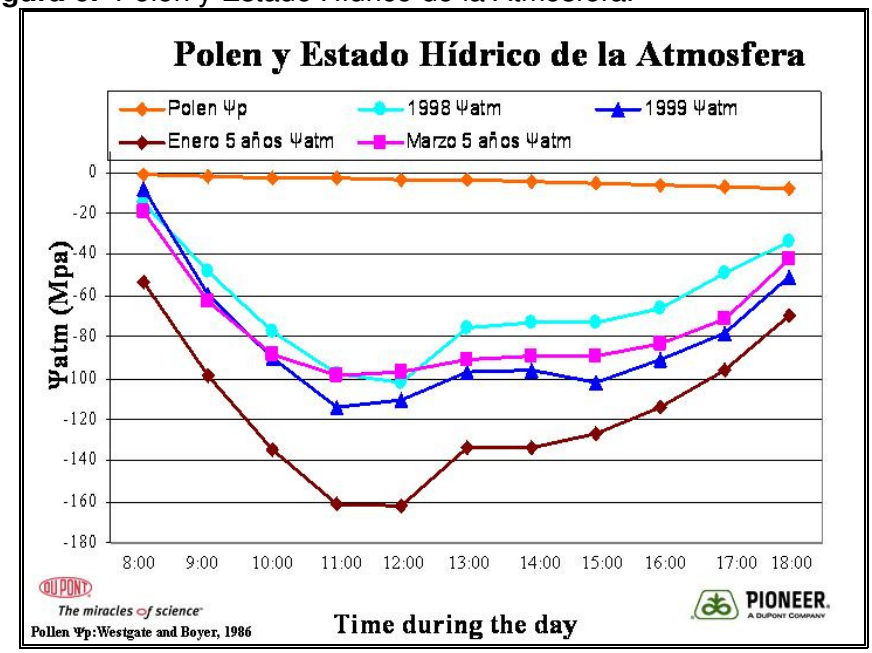
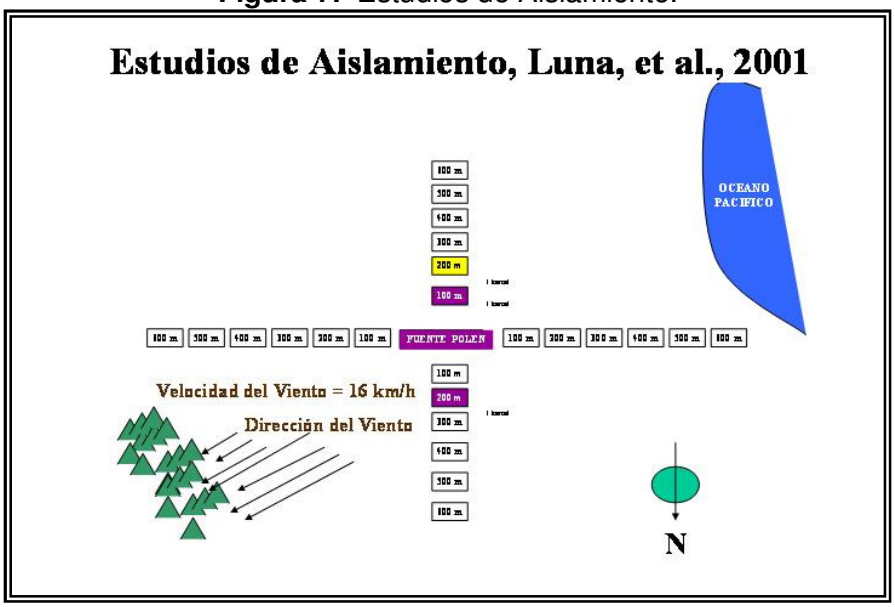


Figura 7. Estudios de Aislamiento.



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

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

Figura 8. El maíz y el Teocintle.

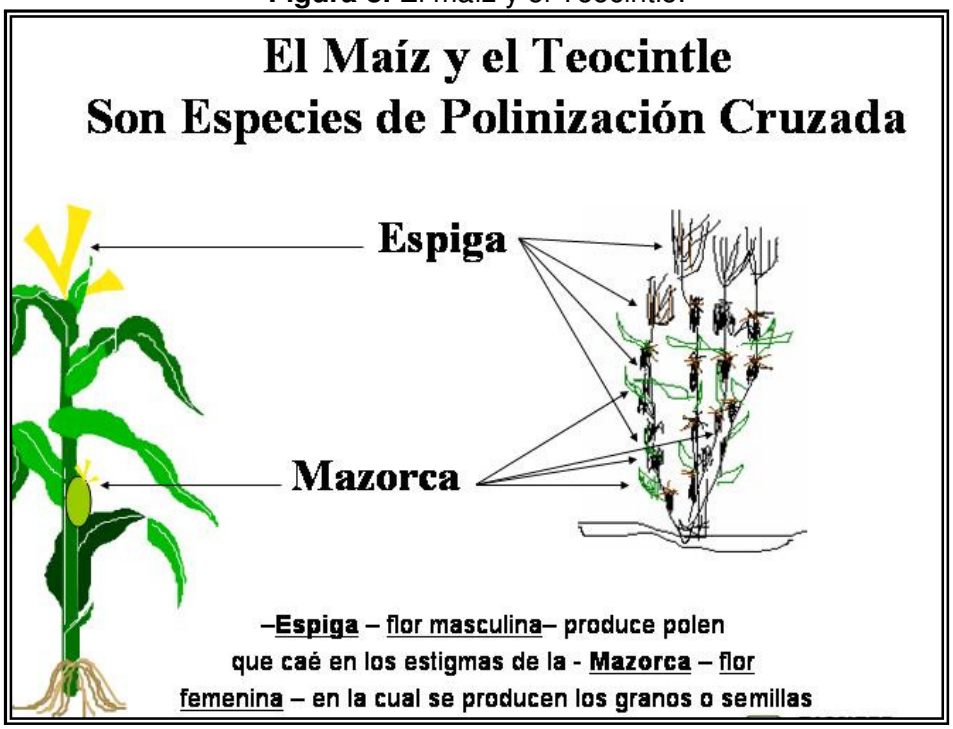
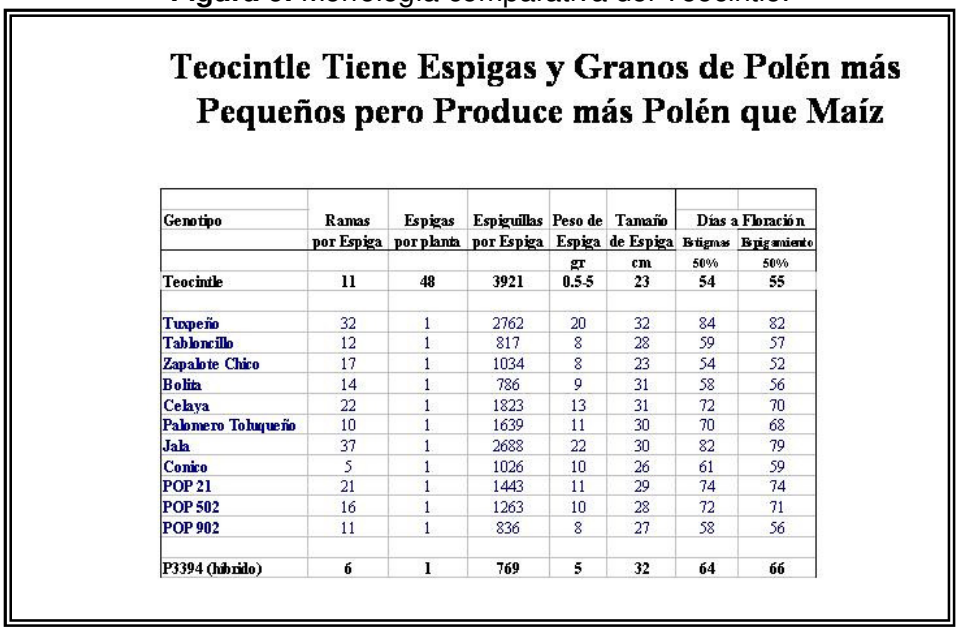


Figura 9. Morfología comparativa del Teocintle.



Genotipo	Ramas por Espiga	Espigas por planta	Espiguillas por Espiga	Peso de Espiga	Tamaño de Espiga	Días a Floración	
						Estigmas	Espigamiento
				gr	cm	50%	50%
Teocintle	11	48	3921	0.5-5	23	54	55
Tuxpeño	32	1	2762	20	32	84	82
Tabloncillo	12	1	817	8	28	59	57
Zapalote Chico	17	1	1034	8	23	54	52
Bolita	14	1	786	9	31	58	56
Celaya	22	1	1823	13	31	72	70
Palomero Toluqueño	10	1	1639	11	30	70	68
Jala	37	1	2688	22	30	82	79
Conico	5	1	1026	10	26	61	59
POP 21	21	1	1443	11	29	74	74
POP 502	16	1	1263	10	28	72	71
POP 902	11	1	836	8	27	58	56
P3394 (hibrido)	6	1	769	5	32	64	66

La dispersión del polen está determinada por una diversidad de factores ambientales y físicos. La dirección del viento, las turbulencias y la velocidad del viento se encuentran directamente

relacionadas al movimiento del polen (Jones and Brooks, 1950; Di-Giovanni and Kevan, 1991). Otros factores tales como la densidad del polen, la densidad y la viscosidad del aire, la velocidad de sedimentación del polen y el radio del polen parecen influir en el transporte y la deposición del polen (Paterniani and Sort, 1974; Di-Giovanni et al., 1995; Aylor, 2002).

En esta fase experimental de siembra de maíz genéticamente modificado se propone como medida de bioseguridad para el no desespigue de las parcelas el aislamiento por distancia, esto con fundamento en estudios de flujo de polen realizados en México con híbridos convencionales no transgénicos, los cuales han demostrado que el aislamiento espacial para lotes contiguos de maíz se puede obtener a una distancia de la fuente de polen de aproximadamente 300 metros (Luna et al. 2001).

Los experimentos aquí descritos se sembrarán utilizando como medida de bioseguridad el aislamiento por distancia de entre 300 y 500 metros con respecto a cualquier otro maíz en base a las recomendaciones establecidas por la CONABIO (S.G.P.A./DGIRA.DDT.0191.06;S.G.P.A./DGIRA.DDT.0192.06; .G.P.A./DGIRA.DDT.0193.06; S.G.P.A./DGIRA.DDT.0194.06), alternativamente se manejarán fechas de siembra para obtener el aislamiento mediante desfases en la época de floración de los materiales de prueba con cuaquier material que se pudiere encontrar a sus alrededores en la mencionada distancia.

Se ha demostrado además que una vez en la atmósfera, los granos de polen deben mantenerse viables el tiempo suficiente para que alcancen a llegar a un estigma viable y así poder completar el proceso de polinización. En promedio el grano de polen pierde el 100% de viabilidad después de dos horas de exposición atmosférica (Luna et al., 2001; Aylor, 2003). Típicamente los estigmas proporcionan a los granos de polen la humedad y nutrientes que le permiten germinar. El crecimiento del tubo polínico generalmente es visible dentro de los 30 minutos que el grano de polen ha llegado a un estigma receptivo y la fertilización ocurre dentro de aproximadamente 24 horas (Kiesselbach, 1999).

En los estudios de flujo genético realizados por el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA (Colombia), en Córdoba 2006, entre maíz genéticamente modificado y convencional, se verificó que la mayor parte del cruzamiento ocurrió en los primeros 50 m a partir de la fuente de polen. Estos resultados son consistentes con lo encontrado en otros países donde se ha evaluado el flujo de polen de maíz, bien sea genéticamente modificado o convencional, en los que se ha encontrado que el viento deposita el polen en el mayor porcentaje a 25-50m de la fuente por lo que no se considera que intercambie polen mas allá de lo normal sobre cualquier otro tipo de maíz incluyendo materiales silvestres que se pudiesen encontrar en la vecindad (Resolución ICA 464/07.(http://www.ica.gov.co/getattachment/2809a51f-3ae0-485e-80c7-5c833d3fedb5/464.aspx). **(Anexo VII)**

Otros estudios recientes realizados en Europa han propuesto que la distancia de aislamiento para el cultivo de maíz transgénico para grano debe ser de 50 metros (Sanvido et al, 2008).

i) Bibliografía reciente de referencia a los datos presentados

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Sanvido, O., Widmer, F., Winzeler, M., Streit, B., Szerencsits, E. and Bigler, F. 2008. Definition and feasibility of isolation distences for transgenic maize cultivation. Transgenic Res. 17:317-335.

j) Las demás que establezcan las NOM

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

a) Medidas y procedimientos de monitoreo de la actividad:

1. Plan de monitoreo detallado

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 y

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

Con el fin de que las autoridades correspondientes a la Verificación e Inspección puedan monitorear el movimiento de semilla y el establecimiento de los experimentos, se informará con 10 días hábiles de anticipación (o el tiempo que la secretaria competente indique) la fecha de las siguientes actividades a realizar en el manejo de los experimentos:

- Fecha de importación de la semilla.
- Fecha estimada y real de siembra.
- Fecha de la realización de las principales prácticas culturales en el manejo del cultivo.
- Fecha estimada y real de cosecha.
- Fecha de exportación del producto cosechado.

Se contará a su vez con los siguientes registros:

- Registro de Acción Correctiva
- Registro de Aislamiento Espacial
- Registro de Cosecha/Terminación
- Registro de Destrucción Temprana de la Cosecha
- Registro de Inspección e Inventario
- Registro de Inspección Poscosecha
- Registro de Retiro de Inflorescencia
- Registro de Siembra
- Registro de Transporte
- Registro del Bordo de Aislamiento

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra (Anexo X).

Los Puntos Críticos de Control hasta ahora identificados dentro del plan de monitoreo son los siguientes:

1. Controlar el movimiento del material vegetal desde y hacia el sitio del ensayo (transporte y limpieza de cualquier maquinaria utilizada);
2. Controlar el almacenamiento de semillas y otro material vegetal;
3. Controlar la disposición del material vegetal residual o en exceso en el sitio de ensayo – puede tratarse del exceso de material de siembra, material remanente después de la cosecha y material de las actividades de limpieza, emasculación o desfloración;
4. Controlar la disposición de cualquier material retenido después de la cosecha, como es el caso de las semillas que se reservan para análisis subsiguientes;
5. Controlar la cosecha indebida en el lugar del ensayo; y
6. Realizar un programa de monitoreo para verificar que no se presente dispersión del OGM.

Al igual que en programas de calidad para otras cuestiones se requiere la implementación de procesos de control y documentación efectivos con el respaldo de procedimientos de inspección y verificación.

La detección del OGM será realizada a través del protocolo mencionado en el inciso (g) del apartado III

b) Medidas y procedimientos de bioseguridad

1. **Medidas y procedimientos para prevenir la liberación y dispersión del OGM fuera de la zona o zonas donde se pretende realizar la liberación.**
2. **Medidas y procedimientos para disminuir el acceso de organismos vectores de dispersión o de personas que no se encuentren autorizadas para ingresar al área de liberación a dichas zona o zonas**

Ver el Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del riesgo (Anexo VIII).

El personal debe conocer sus responsabilidades para garantizar que el material sea manipulado, empacado, etiquetado y almacenado de manera adecuada; que se lleven registros apropiados; y que en el caso de una liberación accidental se sepa qué acciones tomar y por parte de quién. Las copias de los procedimientos operativos normalizados deben encontrarse en forma accesible para todo el personal autorizado

Las áreas de almacenaje serán etiquetadas mencionando que contienen material vegetal experimental genéticamente modificado. Las etiquetas deben adherirse a los contenedores en el lugar de entrada, recomendándose que el acceso a los depósitos se restrinja sólo al personal autorizado.

Aislamiento espacial

Los ensayos a campo con organismos vegetales genéticamente modificados pueden aislarse reproductivamente de otras plantas de la misma especie o de parientes sexualmente compatibles separándolos con una distancia mínima. En esta fase experimental de siembra de maíz genéticamente modificado se propone como medida de bioseguridad para el no desespigue de las parcelas el aislamiento por distancia, esto con fundamento en estudios de flujo de polen realizados en México con híbridos convencionales no transgénicos, los cuales han demostrado que el aislamiento espacial para lotes contiguos de maíz se puede obtener a una distancia de la fuente de polen de aproximadamente 300 metros (Luna et al. 2001).

Los experimentos aquí descritos se sembrarán utilizando como medida de bioseguridad el aislamiento por distancia de entre 300 y 500 metros con respecto a cualquier otro maíz en base a las recomendaciones establecidas por la CONABIO (S.G.P.A./DGIRA.DDT.0191.06;S.G.P.A./DGIRA.DDT.0192.06; .G.P.A./DGIRA.DDT.0193.06; S.G.P.A./DGIRA.DDT.0194.06), alternativamente se manejarán fechas de siembra para obtener el aislamiento mediante desfases en la época de floración de los materiales de prueba con cuaquier material que se pudiere encontrar a sus alrededores en la mencionada distancia.

Todas las plantas de la misma especie o de especies relacionadas presentes en la zona de aislamiento deben ser removidas antes de la antesis o de la formación de la semilla y tratarse de manera tal que resulten inviables.

Aislamiento temporal

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

Cuando se ha producido una transgresión del aislamiento temporal y ya ha ocurrido la liberación del polen del material experimental genéticamente modificado, la parte autorizada debe ser notificada de inmediato para evaluar si es posible restablecer el confinamiento mediante aislamiento espacial.

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

En caso de presentarse diseminación o dispersión no intencional de la semilla en sitios no permitidos para la liberación, se notificará inmediatamente a las autoridades de SENASICA-SAGARPA. Se delimitará y señalizará el área en donde ocurrió la liberación no intencional y ésta será controlada de acuerdo con las recomendaciones propias de la empresa, de SENASICA-SAGARPA y de la PROFEPA - INE - SEMARNAT.

Acciones correctivas.

Liberación accidental durante el transporte.

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

Liberación accidental durante la siembra.

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

Medidas en caso de una liberación accidental.

Para detectar la dispersión no intencional del OGM más allá de los sitios de liberación permitidos o de las áreas designadas para su uso, se realizarán de manera rutinaria las siguientes acciones:

El resto de la superficie cultivada con maíz en la región, será también inspeccionada de manera aleatoria mediante el análisis de plantas con tiras reactivas específicas para detectar la proteína Cry1F en maíz y así poder identificar siembras irregulares o ilegales de maíz GM. Al ser confirmada la siembra irregular o ilegal, se procede a la integración del expediente conforme a la ley y se establecerá un curso legal sobre quien resulte responsable, además de informar de tal situación a las autoridades de la SAGARPA.

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

Ver inciso (b) de este apartado IV

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

Justificación en inciso (f) apartado III

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

Disposición final del OGM.

La semilla GM producida de estos experimentos y la semilla remanente que resulte de la limpieza o acondicionamiento se destruirá por incineración dentro de los terrenos del agricultor cooperante. Los residuos de rastrojo se incorporarán al suelo. Los terrenos donde se siembre el experimento se monitoreara para detectar la presencia de plantas voluntarias y de encontrarse se destruirán por medios mecánicos o químicos.

Limpieza del equipo de campo.

Antes de entrar al lugar del ensayo, el equipo utilizado para sembrar o plantar ensayos de campo confinados debe dejarse limpio de todo material vegetal, incluyendo semillas y cualquier material que pudiera haber quedado como consecuencia de las tareas realizadas con anterioridad. Igualmente, todos los equipos utilizados para sembrar o plantar el ensayo o los utilizados en las prácticas culturales deben ser limpiados en el lugar del ensayo para eliminar el traslado accidental y la liberación no intencional de material experimental. Los métodos de limpieza pueden incluir limpieza manual, con aire comprimido o con agua a alta presión.

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

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

V. Antecedentes de liberación del OGM en otros países cuando esto se haya realizado, debiendo anexar la información pertinente cuando esta se encuentra al alcance del promovente:

a) Descripción de la zona donde se realizó la liberación

El evento DAS-01507-1 se ha utilizado en numerosos ensayos de campo en los Estados Unidos desde finales de 1996. El Servicio de Salud Animal y Vegetal (APHIS, por sus siglas en inglés) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, aprobó todos los ensayos, los cuales cumplen con los estándares de rendimiento esbozados en 7 CFR 340.3(a). Asimismo las agencias regulatorias del medio ambiente (EPA) y salud (FDA) han aprobado la comercialización de híbridos de maíz con dicho evento en los Estados Unidos. Por otro lado, la Secretaria de Salud en México ha notificado que la proteína Cry1F no representa ningún daño para la salud humana o animal. En la Tabla 8 se encuentran los países que han aprobado el evento acumulado DAS-01507-1 x MON-00603-6.

b) Efectos de la liberación sobre la flora y fauna

Ninguno

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

La línea DAS-01507-1 ha sido sembrada en el campo desde 1997 en zonas maiceras de los Estados Unidos, Puerto Rico, Hawai, Colombia y Honduras. Ensayos de campo de la línea 1507 conteniendo el gen cry1F con sus respectivos controles, fueron establecidos en regiones clave para la producción de maíz en los Estados Unidos durante 1999. Y ha sido comercializado por varios años desde entonces sin haber presentado ningún problema hasta la fecha.

El *EFSA Journal* (2006) 355, 1-23 **(Ver anexo II)** considera que el maíz 1507 x NK603 es tan seguro come su contraparte convencional, por consiguiente concluye que en el contexto de su uso es improbable que este maíz tenga algún efecto adverso en humanos, salud animal y medio ambiente.

Ver también anexo X, manual de buenas prácticas de siembra

d) Otros estudios o consideraciones en los que se analicen la contribución del OGM a solución de problemas ambientales, sociales, productivos, etc, así como consideraciones socioeconómicas que existan respecto a la liberación de OGMs al ambiente

La agricultura intensiva en general ha sido una actividad que ha causado más problemas a la biodiversidad en los agroecosistemas modernos. En general a mayor intensificación de las labores agrícolas se han encontrado mayores reducciones en biodiversidad en estos ecosistemas (Ammann, 2005).

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

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

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

La proteína Cry1F en DAS–01507-1 es equivalente a la proteína utilizada en Bio-insecticidas El ingrediente activo del bio-insecticida microbiano foliar, Lepinox, es la proteína Cry1F encapsulada en *Pseudomonas fluroescens*. La proteína Cry1F en este bio-pesticida ha sido sujeto de numerosos estudios de seguridad y ha sido ampliamente reconocido como un insecticida no-tóxico a mamíferos, pájaros y peces así como a insectos benéficos. Análisis Western y estudios en vivo en contra de insectos lepidópteros, han demostrado que la proteína Cry1F producida en las plantas de maíz con el evento DAS-01507-1 es equivalente a la proteína Cry1F encapsulada en *P. fluroescens*.

La información relacionada con el evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

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

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

La línea de maíz con el evento DAS-01507-1, resistente a ciertas especies de insectos lepidópteros, produce pequeñas cantidades de la proteína Cry1F. La proteína producida por el gen cry1F ha demostrado ser efectiva en el control de ciertas especies de gusanos lepidópteros en el estado larvario de crecimiento. A pesar de que los marcadores selectivos fueron introducidos a las células con el propósito de selección, las plantas regeneradas expresan tolerancia al glufosinato de amonio en comparación con plantas no transformadas.

La línea DAS-01507-1 ha sido sembrada en el campo desde 1997 en zonas maiceras de los Estados Unidos, Puerto Rico, Hawai, Colombia y Honduras. Los mejoradores de maíz han realizado ensayos de campo para monitorear resistencia a enfermedades manchas foliares o tizones (*Helminthosporium turcicum* y *Helminthosporium maydis*), roya del sur (*Puccinia polysora*), bacteria (*Erwinia stewartii*), y carbones (*Sphaceloteca reiliana* y *Ustilago maydis*) y insectos plaga (gusano elotero, gusano cogollero, chicharritas, afidos, araña roja, gusano barrenador) de la línea TC1507 y líneas no modificadas de maíces. No se observaron diferencias en resistencia a enfermedades y plagas (que no fueran los otorgados por el gen *cry1F*) entre las plantas de maíz DAS-01507-1 y el maíz sin el gen.

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

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

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

La proteína Cry1F en DAS-01507-1 es equivalente a la proteína utilizada en Bio-insecticidas El ingrediente activo del bio-insecticida microbiano foliar, Lepinox, es la proteína Cry1F encapsulada en *Pseudomonas fluroescens*. La proteína Cry1F en este bio-pesticida ha sido sujeto de numerosos estudios de seguridad y ha sido ampliamente reconocido como un insecticida no-tóxico a mamíferos, pájaros y peces así como a insectos benéficos. Análisis Western y estudios en vivo en contra de insectos lepidópteros, han demostrado que la proteína Cry1F producida en las plantas de maíz con el evento TC1507 es equivalente a la proteína Cry1F encapsulada en *P. fluroescens*.

La información relacionada con el evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Monsanto ha presentado a las secretarias competentes para el evento NK603 y al cual se ha dado autorización de acceso por dichas autoridades de acuerdo al oficio presentado en el anexo XI

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

La vigencia esperada de liberación experimental se estima de una año, lo cual dará margen a realizar las pruebas de campo experimentales correspondientes y reportar los resultados inmediatamente después del análisis de estos.

VIII. La información que en cada caso determinen las NOM

ANEXO II. Opinión of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms. EFSA

Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-UK-2004-05) for the placing on the market of insect-protected and glufosinate and glyphosate-tolerant genetically modified maize 1507 x NK603, for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred and Mycogen Seeds[1]

(Question No EFSA-Q-2004-139)

Opinion adopted on 28 March 2006

SUMMARY

This document provides an opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms (GMO Panel) of the European Food Safety Authority (EFSA) on genetically modified maize 1507 x NK603 (Unique Identifier DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6) developed to provide protection against specific lepidopteran pests and tolerance to the herbicides glufosinate and glyphosate.

In delivering its opinion the Panel considered the application EFSA-GMO-UK-2004-05, additional information provided by the applicant and the scientific comments submitted by the Member States. Further information from applications for placing the single events maize 1507 and maize NK603 on the market under EU regulatory procedures was taken into account, when appropriate.

The GMO Panel assessed 1507 x NK603 maize with reference to the intended uses and the appropriate principles described in the guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the Risk Assessment of Genetically Modified Plants and Derived Food and Feed. The scientific assessment included molecular characterisation of the inserted DNA and expression of target proteins. A comparative analysis of agronomic traits and composition was undertaken and the safety of the new proteins and the whole food/feed was evaluated with respect to toxicity and allergenicity. Both a nutritional and an environmental assessment were undertaken, the latter including an environmental monitoring plan.

The single events maize 1507 and NK603 have been the subjects of earlier assessments. Maize 1507 was developed to be tolerant to the herbicide glufosinate by the introduction of a gene encoding phosphinothricin-N-acetyltransferase (PAT) from *Streptomyces viridochromogenes* and to provide protection against certain lepidopteran pests such as the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) and species belonging to the genus *Sesamia* by the introduction of a truncated *cry*1F gene from *Bacillus thuringiensis* ssp. *aizawai*. Maize 1507 was assessed previously for import and processing under Part C of Directive 2001/18/EC. It was also assessed for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of Directive 2001/18/EC and for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003. It was approved for import, processing and feed uses under Directive 2001/18 by Commission Decision

[1] For citation purposes: Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-UK-2004-05) for the placing on the market of insect-protected and glufosinate and glyphosate-tolerant genetically modified maize 1507 x NK603, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred and Mycogen Seeds, *The EFSA Journal* (2006) 355, 1-23.

2005/772/EC and for food uses under Regulation 1829/2003 by Commission Decision 2006/197/EC. NK603 was developed to be tolerant to the herbicide glyphosate by the introduction of a gene coding for 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4 (CP4 EPSPS). NK603 has received EFSA opinions in favour of its authorisation and was authorised under Directive 2001/18/EC by Commission Decision 2004/643/EC. The use of food and food ingredients from NK603 maize was authorised under Regulation (EC) No 258/97 by Commission Decision 2005/448/EC.

Maize 1507 x NK603 is produced by crosses between maize inbred lines containing maize events 1507 and NK603 to combine the lepidopteran resistance trait and glufosinate tolerance in maize 1507 with glyphosate tolerance in maize NK603. No new genetic modifications were introduced.

Molecular analysis of the DNA inserts present in maize 1507 x NK603 confirmed that both maize event 1507 and maize event NK603 are present and the structure of their inserts is retained.

Cry1F and CP4 EPSPS protein levels in kernels of maize 1507 x NK603 were comparable with the levels in the parental maize lines 1507 and NK603, previously assessed. PAT was expressed below the lower limit of quantification of the assay both in kernels of maize 1507 and in kernels of maize 1507 x NK603. The safety of the Cry1F, PAT and CP4 EPSPS proteins has previously been assessed and positive opinions on the single 1507 and NK603 maize events have been given by EFSA. The Panel found no evidence of any interactions between the newly expressed Cry1F, PAT and CP4 EPSPS proteins.

Maize 1507 x NK603 contains transgenic proteins resulting in an insect- resistant and herbicide-tolerant phenotype. Besides these deliberate changes, this maize neither showed marked alterations in composition, agronomy and phenotype compared with a non-GM hybrid maize with a genetic background similar to the maize 1507 x NK603, nor with several non-GM reference lines. The Panel therefore concludes that except for the introduced traits, maize 1507 x NK603 is compositionally and phenotypically equivalent to conventional counterparts.

A feeding study conducted with maize 1507 x NK603 on broilers confirmed the nutritional wholesomeness. The Panel considers that the nutritional properties of this maize would be no different from those of conventional counterparts.

The application EFSA-GMO-UK-2004-05 concerns food and feed uses, import and processing. There is therefore no requirement for scientific information on possible environmental effects associated with the cultivation of the maize lines. The GMO Panel agrees that unintended environmental effects due to the establishment and spread of GM maize will not be different from that of conventionally bred maize. The monitoring plan provided by the applicant is in line with the intended uses for the GMO.

In conclusion, the Panel considers that the information available for maize 1507 x NK603 addresses the scientific comments raised by the Member States and that the GM maize 1507 x NK603 is as safe as its conventional counterparts with respect to effects on human and animal health and the environment. Therefore the Panel concludes that this maize is unlikely to have any adverse effect on human and animal health and the environment in the context of its intended uses.

Key words: GMOs, maize, 1507, NK603, 1507 x NK603, insect protection, DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6, gluphosinate tolerance, glyphosate tolerance, Cry1F, PAT, CP4 EPSPS, food/ feed safety, human health, environment, import, Regulation (EC) No 258/97, Directive 2001/18/EC, Regulation (EC) No 1829/2003.

TABLE OF CONTENTS

SUMMARY....1
BACKGROUND....3
TERMS OF REFERENCE....4
ASSESSMENT....4
CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS....19
DOCUMENTATION PROVIDED TO EFSA....19
REFERENCES....20
SCIENTIFIC PANEL MEMBERS....23
ACKNOWLEDGEMENT....23

BACKGROUND

On 1 October 2004 EFSA received from the United Kingdom Competent Authority an application (Reference EFSA-GMO-UK-2004-05), for authorisation of maize 1507 x NK603 (Unique Identifier DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6), submitted by Pioneer Hi-Bred International and Mycogen Seeds within the framework of Regulation (EC) No 1829/2003 on genetically modified food and feed (EC, 2003).

After receiving the application EFSA-GMO-UK-2004-05 and in accordance with Articles 5(2)(b) and 17(2)b of Regulation (EC) No 1829/2003, EFSA informed the Member States and the Commission and made the summary of the dossier available to the public on the EFSA website[2]. EFSA initiated a formal review of the application to check compliance with the requirements laid down in Articles 5(3) and 17(3) of Regulation (EC) No 1829/2003. On 13 January 2005 EFSA received additional information (requested on 10 November 2004) and declared the application as formally valid in accordance with Articles 6(1) and 18(1) of Regulation (EC) No 1829/2003 on 1 April 2005.

EFSA made the valid application available to Member States and the Commission and consulted nominated risk assessment bodies of the Member States, including the national Competent Authorities within the meaning of Directive 2001/18/EC (EC, 2001) following the requirements of Articles 6(4) and 18(4) of Regulation (EC) No 1829/2003, to request their scientific opinion. The Member State bodies had three months after the date of receipt of the valid application (until 1 July 2005) within which to make their opinion known.

On 15 July 2005 the GMO Panel asked for additional data on the molecular characterisation of maize 1507 x NK603. The applicant provided the complete requested information on 3 February 2006. After receipt of the full data package, the GMO Panel finalised its risk assessment of maize 1507 x NK603.

The Scientific Panel on Genetically Modified Organisms carried out a scientific assessment of the genetically modified (GM) maize 1507 x NK603 for food and feed uses and import and processing, in accordance with Articles 6(6) and 18(6) of Regulation (EC) No 1829/2003, taking into consideration the scientific comments of the Member States and the additional information provided by the applicant. Further information from applications for placing the single insert events on the market under EU regulatory procedures was also taken into account, when appropriate.

[2] http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gm_ff_applications/catindex_en.html

Maize with the single events 1507 and NK603 have been the subjects of earlier assessments by the GMO Panel and have received EFSA opinions in favour of their authorisation. Maize 1507 was assessed previously for import and processing under Part C of Directive 2001/18/EC (EFSA, 2004a). It was also assessed for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of Directive 2001/18/EC and for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 (EFSA, 2005a,b). It was approved for import, processing and feed uses under Directive 2001/18 by Commission Decision 2005/772/EC (EC, 2005b) and for food uses under Regulation 1829/2003 by Commission Decision 2006/197/EC (EC, 2006). NK603 has received EFSA opinions in favour of its authorisation (EFSA, 2003a,b) and was authorised under Directive 2001/18/EC by Commission Decision 2004/643/EC (EC, 2004a). The use of food and food ingredients from NK603 maize was authorised under Regulation (EC) No 258/97(EC, 1997b) by Commission Decision 2005/448/EC (EC, 2005a).

In giving its opinion on maize 1507 x NK603 to the Commission, the Member States and the applicant, and in accordance with Articles 6(1) and 18(1) of Regulation (EC) No 1829/2003 EFSA has endeavoured to respect a time limit of six months from the receipt of the valid application. As additional information was requested by the EFSA GMO Panel, the time-limit of 6 months was extended accordingly, in line with Articles 6(1), 6(2), 18(1), and 18(2) of Regulation (EC) No 1829/2003.

According to Regulation (EC) No 1829/2003, the EFSA opinion shall include a report describing the assessment of the food and feed and stating the reasons for its opinion and the information on which its opinion is based. This document is to be seen as the report requested under Articles 6(6) and 18(6) of that Regulation and thus will be part of the overall opinion in accordance with Articles 6(5) and 18(5) including the particulars (a) to (g).

TERMS OF REFERENCE

The GMO Panel was requested, in accordance with Articles 6(6) and 18(6) of Regulation (EC) No 1829/2003, to carry out a scientific assessment of the genetically modified maize 1507 x NK603 for food and feed uses, import and processing.

Where applicable, any conditions or restrictions which should be imposed on the placing on the market and/or specific conditions or restrictions for use and handling, including post-market monitoring requirements based on the outcome of the risk assessment and, in the case of GMOs or food/feed containing or consisting of GMOs, conditions for the protection of particular ecosystems/environment and/or geographical areas should be indicated in accordance with Articles 6(5)(e) and 18(5)e of Regulation (EC) No 1829/2003.

The Panel was not requested to give an opinion on information required under Annex II to the Cartagena Protocol. The Panel did also not consider proposals for labelling and methods of detection (including sampling and the identification of the specific transformation event in the food/feed and/or food/feed produced from it), which are matters related to risk management.

ASSESSMENT

1. Introduction

The genetically modified (GM) maize 1507 x NK603 is assessed with reference to its intended uses and the appropriate principles described in the guidance document of the GMO Panel for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed (EFSA, 2004b). The combination of separate events as a result of a cross between GM plants raises questions about the extent to which data on maize 1507 and NK603 can be extrapolated to assess the

safety of maize 1507 x NK603. The GMO Panel considers this on a case-by-case basis depending on the nature of the genetic modifications in maize 1507 x NK603.

2. Molecular characterisation

2.1. Issues raised by Member States

Comments were made regarding: (1) the lack of consistency between the expected sizes of the Southern blot bands using *Sac*I and *Eco*RV when comparing 1507 maize with lines with combined 1507X NK603 traits; (2) the adequacy of data on protein expression from the introduced genes, and (3) the choice of the controls and the methodology used.

2.2. Evaluation of relevant scientific data

The EFSA GMO Panel guidance document (EFSA, 2004b) states that when events have been combined by the interbreeding of existing approved GM lines, the need for further molecular analysis will depend, on a case-by-case basis, on the nature of the genetic modifications involved.

Having considered the information provided in the application and the comments of the Member States, the GMO Panel requested clarification from the applicant with regard to the molecular characterization of maize 1507.

2.2.1. Method of production of maize 1507x NK603

Traditional breeding methods were used to produce maize 1507 × NK603 and no new genetic modification was involved. The two inserts that are present in 1507 × NK603 were derived from maize lines containing two independent events: 1507 and NK603. Each of these GM maize events was the subject of an earlier safety evaluation and separate opinions for each of them have been published (EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b). Maize 1507 × NK603 combines the insect protection and glufosinate tolerance traits from 1507 with the glyphosate tolerance in NK603.

2.2.2. Summary of the previous evaluation of the single events

1507

Maize 1507 has been developed for protection against specific lepidopteran pests such as the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) and *Sesamia* species. and for tolerance to the herbicide glufosinate. Insect resistance is achieved by production of a truncated Cry1F protein from *Bacillus thuringiensis* ssp. *aizawai* and tolerance to the herbicide is conferred by a phosphinothricin-N-acetyltransferase (PAT) from *Streptomyces viridochromogenes*. Maize embryos were transformed by particle bombardment to transfer a DNA fragment containing these two genes. As a result of the genetic modification, the 1507 event contains an insert bearing both *cry*1F and *pat* genes, under the control of the maize ubiquitin and 35S promoters, respectively.

Molecular analysis showed that 1507 maize contains one copy of the DNA fragment used for transformation and that this is present at a single locus in the nuclear genome of the GM plant. The complete DNA sequence of the insert was provided. In addition to the intact genes, the insert in 1507 maize includes DNA sequences originating from the fragment used for transformation as well as maize chloroplast and nuclear genome sequences at both ends of the

inserted sequence. While these sequences may have resulted from the transformation process (insertional events), there were no indications that these additional fragments would result in the transcription of new RNA other than the mRNAs transcribed from the *cry*1F and *pat* genes. In the unlikely event that this does occur, bioinformatics analysis showed that any resulting peptides or proteins would have no homology to known toxins or allergens. Analysis of DNA sequences flanking both ends of the insert shows that they correspond to maize genomic DNA.

The expression levels of Cry1F and PAT proteins in 1507 maize have been studied in leaf, pollen, silk, stalk, whole plant, grain and senescent whole plant tissue samples collected from field studies in Chile during the season 1998/1999 and in material of French and Italian field studies during 1999. None of the samples from Chile and France had been sprayed with glufosinate-ammonium. In the field trial in Italy both sprayed and non-sprayed material was collected. None of the proteins could be identified with an ELISA technique in control samples. The PAT protein was found at detectable levels only in leaf tissue and whole plant

NK603

Maize line NK603 was the subject of an earlier safety assessment (EFSA, 2003a,b). In the NK603 event glyphosate tolerance was achieved by the introduction of a gene encoding a glyphosate tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4 (CP4 EPSPS). The EPSPS activity is needed for the biosynthesis of aromatic amino acids in plants and in micro-organisms but the structure of the normal plant enzyme (EPSPS) makes it commonly vulnerable to glyphosate, thereby causing the plants to be killed by the herbicide. Use of the CP4 EPSPS gene in the transgenic plant confers tolerance to the herbicide.

Molecular analysis showed that NK603 contains a single inserted copy of the DNA present in the construct used for the transformation. The plasmid vector used for the transformation contained two adjacent plant gene expression cassettes each containing a single copy of the *cp*4 *epsps* gene with different promoters. The insert in NK603 does include some molecular rearrangements at one end of the insert and also includes a fragment of chloroplast DNA. These rearrangements and the insertion of chloroplast DNA do not lead to new traits and are not considered to pose a safety risk. In the unlikely event that a new peptide or protein is produced as a consequence of the insertion event, bioinformatics analysis showed that these would have no homology to known toxins or allergens. Moreover, the toxicological assessment does not indicate adverse effects from consumption of maize NK603.

2.2.3. Transgenic constructs in the maize 1507 x NK603

A cross between the two transgenic maize lines 1507 and NK603 was used to produce the maize 1507 x NK603. The molecular structures of the DNA inserts present in this maize were investigated using Southern analyses. This involved the use of DNA probes specific for the 1507 or NK603 maize inserts, respectively. In order to confirm the molecular equivalence and identical copy number of the insert present in maize 1507 x NK603 to that present in 1507 maize, samples of genomic DNA from four individual maize 1507 x NK603 plants and from six individual 1507 maize plants were digested with the restriction enzyme *Hind*III and subjected to Southern blot analysis with the *cry*1F and *pat* gene probes. Further comparisons were made between maize 1507 x NK603 and 1507 and NK603 maize using DNA from four individual plants from each of 1507 x NK603, 1507 and NK603 maize. On this occasion *Eco*RV and *Sac*I restriction enzymes were selected for DNA digestion and three probes selected for detection: a) the 35S promoter, (common to both 1507 and NK603); b) the *cry*1F gene probe and c) the *pat* gene probe. Additional Southern blot analyses were carried out on *Eco*RV digests with a DNA probe containing the coding region of the *cp4 epsps* gene.

The applicant provided sequence information for maize 1507 to confirm the presence of a *Sac*I site in the 5' border and so to confirm its reasoning that this was responsible for the additional band detected in Southern blots. The length of the sequence provided by the applicant was 896 bp and a detailed analysis of this sequence confirmed the presence of a *Sac*I star site in the 5' border at positions 693-698 of the newly identified sequence. This confirmed that the faint 6.97 kb band observed in the original Southern blot analyses originated from altered site specificity of the *Sac*I restriction enzyme (star activity) when applied to the 1507 and 1507xNK603 maize DNA. The data confirms that the existing molecular information is consistent with a single insertion in the 1507 maize genome.

The inserted genetic material from 1507 maize and NK603 maize, integrated in the genome of maize 1507 x NK603, was inherited as dominant genes in a Mendelian fashion. These analyses confirmed that both insert structures were retained in this maize. The Panel is of the opinion that the stability of the trait phenotypes also provides evidence that the transgenes are combined as described in the application.

2.2.4. Information on the expression of the insert

Grains and forage material for studies of expression levels of the transgenic proteins Cry1F, PAT, and CP4 EPSPS were obtained from maize 1507 x NK603 harvested from field trials in Chile the season 2002-2003 (see section 3.2.2.).

The concentrations of transgenic proteins were studied in grain material of maize 1507 x NK603 that had been exposed to i) glyphosate, ii) glufosinate-ammonium, iii) glyphosate followed by glufosinate-ammonium, or iv) none of the herbicides during the field trials, as well as in forage material of maize 1507 x NK603 exposed to glyphosate followed by glufosinate-ammonium. The proteins were extracted and quantified using an ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) technique.

The PAT protein was expressed at undetectable levels in grains of maize 1507 x NK603. PAT was also undetectable in grains of control maize, except for one control sample that was most likely contaminated. The other two proteins, Cry1F and CP4 EPSPS were found in grains of 1507 x NK603 but not in the control material. The average levels of these proteins were similar under the three different herbicide treatments. Thus, average levels of Cry1F ranged from 1.37 to 1.57 ng per mg dry weight, and average CP4 EPSPS levels from 6.62 to 8.25 ng per mg dry weight.

All three transgenic proteins were expressed at higher levels in forage material. The mean protein concentration of the PAT protein was 0.58 ng/mg dry weight, whereas the mean levels of Cry1F and CP4 EPSPS was 5.57 and 62.0 ng/mg dry weight, respectively.

A member state noted there was no comparison of the expression levels of PAT, Cry1F and CP4 EPSPS in maize 1507 x NK603 and its transgenic parental lines presented in the application. However, the expression levels of these proteins in maize 1507 x NK603 grain material were comparable with the levels demonstrated in grain material of maize NK603 and 1507 presented in the respective applications. The GMO Panel is of the opinion that within these comparable ranges, the differences in expression of the transgenes in maize 1507 x NK603 and the single parental lines are of no significance for safety assessment.

2.2.5. Inheritance and stability of inserted DNA

The genetic stability of the inserted DNA in events 1507 and NK603 was demonstrated previously (EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b). In maize 1507 x NK603 the two inserts are

combined. The Southern data presented show that both events are present and the structure of each insert is retained. Furthermore, each of the traits has been conserved in this maize.

2.3. Conclusion

As conventional breeding methods were used in the production of maize 1507 x NK603, no additional genetic modification was involved and thus the molecular structures of the DNA inserts are expected to remain unchanged as indicated by the preservation of the phenotypes. Further analysis using Southern blots demonstrated that the structures of the 1507 and NK603 events were retained in maize 1507 x NK603. The genetic stability of the integrated DNA has been demonstrated in the single events and during the breeding process.

The expression levels of Cry1F, PAT and CP4 EPSPS proteins in maize 1507 x NK603 were measured. Taking into account the variation in gene expression, the expression levels of these proteins in 1507 x NK603 are comparable with those reported previously for the single maize events 1507 and NK603 (EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b).

The Panel concludes that these data do not raise safety concerns.

3. Comparative analysis

3.1. Issues raised by Member States

There were comments from Member States that (1) the field studies should be performed during more than one season, with specific control plants; (2) additional controls in the form of the single GM events 1507 and NK603 maize were asked for and (3) the statistical evaluation of the experimental data should be improved, and an explanation was required as to why the vitamin B_1 level of the non-GM control maize fell outside the normal range of vitamin B_1 content found in the literature.

3.2. Evaluation of relevant scientific data

3.2.1. Evaluation of the single events

1507

In its previous opinions on maize 1507 (EFSA, 2004a; 2005a,b), the Panel summarized the compositional comparison between maize 1507 and a non-GM hybrid maize with genetic background similar to maize 1507 that had been grown during three seasons in areas representative for maize cultivation. The Panel concluded that forage and grains of maize 1507 are compositionally equivalent to forage and grains of conventional counterparts, except for the presence of Cry1F and PAT proteins.

NK603

The Panel has also concluded on the chemical composition of the other parental GM event, maize NK603 (EFSA, 2003a,b). Compositional data for maize NK603 and its non-GM comparators from two growing seasons revealed a minor, but statistically significant difference in the stearic acid content (C18:0) of maize oil in kernels. This difference was noted in material harvested one year, but not in material from the other year. The Panel considered maize NK603 to have the same composition as non-GM hybrid maize with a genetic background similar to the maize NK603, except for the presence of the CP4 EPSPS protein.

3.2.2. Choice of comparator and production of material for the compositional assessment

Maize 1507 x NK603 was obtained by crossing elite lines containing the separate genetically modified maize events 1507 and NK603, whereas the comparator was a non-genetically modified hybrid maize with a genetic background similar to the maize 1507 x NK603. The GMO Panel considers this choice of comparator as appropriate.

Field studies were conducted at six separate geographical sites in the major maize growing regions of Chile (2 in Buin, 2 in Linderos, and 2 in Viluco) during one season (2002-2003) in order (1) to estimate the level of expression of Cry1F, PAT and CP4 EPSPS proteins in grain obtained from maize 1507 x NK603, (2) to estimate whether maize 1507 x NK603 differs from the comparator in important agronomic factors such as reproduction, dissemination, and survivability, and (3) to estimate whether maize 1507 x NK603 differs from the comparator in composition. Irrigation systems differed between the sites of the field trials.

The experimental design at each location was a randomised block design containing four blocks. Each block contained the herbicide treated maize 1507 x NK603 and the comparator. Three of the four blocks were used to obtain material for the comparative assessment and the fourth block to obtain samples for protein expression analysis (see section 2.2.4).

The samples studied in these field trials were harvested from plots of maize 1507 x NK603 sprayed at two different growth stages with (i) glyphosate herbicide only; (ii) glufosinate-ammonium herbicide only; or (iii) glyphosate followed by glufosinate-ammonium herbicide. The comparator was not sprayed with these herbicides.

3.2.3. Compositional analysis

Whole crops and maize tissues, including ears with grains, were collected for compositional analysis from field trials. With regard to composition, grains of maize 1507 x NK603 and its comparator were analysed for 53 different parameters. The compounds analysed included proximates (ash, carbohydrates, acid detergent fiber, neutral detergent fiber, crude fibre, moisture, crude protein, crude total fat), amino acids (methionine, cysteine, lysine, tryptophan, threonine, isoleucine, histidine, valine, leucine, arginine, phenylalanine, glycine, alanine, aspartic acid, glutamic acid, proline, serine and tyrosine), fatty acids (palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic acids), minerals (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P and Zn), vitamins (β-carotene, vitamin B_1, vitamin B_2, folic acid, and vitamin E [α-tocopherol]), secondary metabolites (inositol, raffinose, furfural, *p*-coumaric acid and ferulic acid) and anti-nutrients (phytic acid and trypsin inhibitor). Forage was analysed for proximates (ash, carbohydrates, acid detergent fibre, neutral detergent fibre, crude fibre, moisture, crude protein and crude total fat) and the minerals calcium and phosphorus. The constituents analysed in the grain and forage samples were largely in accordance with guidelines for assessment of genetically modified maize (OECD, 2002).

The statistical analysis of compositional data was carried out both on a per location basis, using data from 3 replicates, and on combined data from all replicates and all locations. In addition to comparing the composition of maize 1507 x NK603 with that of a non-GM hybrid maize with a similar genetic background it was compared with data available in the literature on the composition of commercial maize hybrids. The GMO Panel found the presentation of data and its statistical analysis as adequate.

Compositional comparisons were made between the genetically modified maize 1507 x NK603 treated with glyphosate, glufosinate-ammonium or both herbicides and the comparator, and occasionally the comparison revealed statistically significant differences in the level of some compounds.

When data from all trial sites were combined, the amount of crude fat in forage differed between control maize and maize 1507 x NK603 sprayed sequentially with both herbicides. However, no significant difference in crude fat between these crops was observed when the data from each individual site were examined using separate statistical analyses. Furthermore, neither application of glyphosate nor glufosinate-ammonium alone influenced the crude fat level of forage from maize 1507 x NK603.

In the statistical analysis of combined compositional data on kernels of maize 1507 x NK603 and of the comparator, the compounds displaying significant differences under all three herbicide treatments included palmitic acid, manganese, potassium, zinc, vitamins B_1 and vitamin E. Additional differences in the combined data included linolenic acid after glyphosate treatment; crude fat, stearic acid, oleic acid, linolenic acid, cysteine, methionine, magnesium, *p*-coumaric acid, and ferulic acid after glufosinate treatment; and stearic acid, aspartic acid, cysteine, methionine, and folic acid after treatment with both herbicides. However, none of these differences were consistently observed in material from different locations, and in some cases not in material from a single site. Neither were any of these levels outside the ranges reported in the literature for these compounds in conventional hybrid maize kernels. The slightly elevated level of vitamin B_1 in kernels of control maize was not consistent and observed in grain material from four out of six locations.

The Panel considered the observed compositional differences between maize 1507 x NK603 and its comparator in the light of the field trial design, measured biological variation and the level of the studied compounds in conventional and commercial maize hybrids. The Panel concluded that maize 1507 x NK603 can be considered to have a composition equivalent to its conventional counterparts.

3.2.4. Agronomic traits and GM phenotype

Agronomic characteristics of maize 1507 x NK603 and its non-GM comparator were recorded over the course of the growing season. The characteristics measured were: early plant population counts, silking, pollen shed, plant height, ear height, stalk lodging, root lodging, final population, leaf greenness, disease incidence, insect damage, pollen shape and pollen colour. There was no statistically significant difference when comparing the agronomic characteristics of maize 1507 x NK603 and the comparator. Similarly, no unexpected changes in pollen production, seed production, seed viability and germination were observed for 1507 x NK603 when compared with the non-GM maize.

3.3 Conclusion

In earlier opinions from the GMO Panel, 1507 maize and NK603 maize were assessed and found to have a similar composition to the genetically related non-GM maize lines (EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b). As both parental lines have been assessed in detail by the GMO Panel, the Panel accepts that data for comparative assessment are obtained from one growing season of maize 1507 x NK603.

After evaluating the nutrient and anti-nutrient composition of forage and grain of maize 1507 x NK603, the GMO Panel concludes that the composition of maize 1507 x NK603 is comparable with that of a non-GM hybrid maize with a similar genetic background, with exception of the three newly expressed proteins. Furthermore, 1507 x NK603 was shown to have the same agronomic characteristics as the non-GM control maize except for the introduced traits.

4. Food/feed safety assessment

4.1. Issues raised by Member States

Member States requested: (1) an extension of the testing program for potential toxicity and allergenicity, including a 90-day feeding study in rodents and allergenicity testing of the whole product. Concern was raised that the Cry1F protein expressed in maize 1507 x NK603 might not be as inert as expected in relation to allergenic potency. This concern was raised because another Cry protein, Cry1Ac, has been suggested to be a systemic and mucosal adjuvant; (2) a post market monitoring plan for food and feed; and (3) data on herbicide residues.

4.2. Evaluation of relevant scientific data

4.2.1. Evaluation of the single events

1507

No oral toxicity of maize 1507 was observed in a rat study where the experimental animals were fed *ad libitum* a diet containing up to 33% 1507 maize. In addition, nutritional data comprising target animal feeding studies with whole maize kernels on broilers and dairy cows indicate that 1507 maize is nutritionally equivalent to other conventional maize cultivars. The allergenicity of the Cry1F and PAT proteins have been already assessed in 1507 maize indicating low propability of potential allergenicity. The allergenicity of the whole crops does not appear relevant to the Panel since maize is not considered a common allergenic food. The GMO Panel concluded that these animal studies support the findings of the molecular characterization and the compositional analysis and indicates 1507 maize to be as safe as conventional counterparts (EFSA, 2004a; 2005a,b).

NK603

As a result of the genetic modification NK603 contains two slightly different CP4 EPSPS proteins expressed from two copies of the *cp4 epsps* gene using different promoters. The proteins differ from each other in one amino acid. Analysis of the impact of this change indicated no apparent changes in EPSPS protein structure, activity, toxicity or allergenicity using appropriate bioinformatics approaches, *in vitro* digestion procedures and studies on experimental animals. Furthermore, appropriate animal feeding trials including a 90-day subchronic rodent study and nutritional feeding studies with broilers, Angus-continental cross steers and Holstein diary cows indicated that NK603 is as safe and nutritious as its non-GM comparator. Analysis of the grain from field trials in the USA and Europe showed that NK603 had the same composition as its non-GM comparator. The Panel considered the nutritional and toxicological properties of maize NK603 to be no different from those of conventional maize (EFSA, 2003a,b).

4.2.2. Product description and intended use

The 1507 x NK603 maize application covers the use of 1507 x NK603 maize as food and feed as for any other maize, i.e. food and feed consisting or derived from the genetically modified maize 1507 x NK603. Maize kernels are used mainly for animal feed and in smaller scale for direct human consumption i.e. sweet maize kernels. Products from maize kernels such as flour, starch and its by-products gluten, syrups, bran and maize germ oil can be regarded as important base materials for food production.

As the modification in 1507 x NK603 maize is only intended to improve the agronomic performance but not to influence nutritional aspects, production processes and overall use of maize as a crop are not expected to be influenced as a result of the introduction of the GM plants to the market.

4.2.3. Stability during processing

As the molecular characterization of maize 1507 x NK603 did not identify any alterations indicating a potential for altered expression of proteins and metabolites in the GM maize, and, furthermore, the chemical composition of maize 1507 x NK603 was shown to be comparable to the non-GM control maize, the GMO Panel does not expect the stability of maize 1507 x NK603 grain during processing to be any different from conventional maize grain.

4.2.4. Toxicology

4.2.4.1. Toxicological assessment of expressed novel proteins in maize 1507 x NK603

The transgenic Cry1F protein expressed in the parental maize line 1507 has been assessed in earlier applications. No adverse effects of Cry1F were observed in an acute oral mouse study. In addition, Cry1F was easily degraded. The protein displayed instability towards conditions (heating) prevailing during fish feed production, and was rapidly degraded in simulated gastric fluid. The amino acid sequence of the transgenic Cry1F protein did not show any significant similarity to sequences of known allergens. Neither did hypothetical peptide sequences, corresponding to 24 open reading frames (ORFs) that are present on the insert in maize 1507, nor ORF4 on fragment PHI8999A, show significant similarity to allergens or toxins (EFSA,2004a; 2005a,b).

Also the PAT protein has been assessed in previous applications and been found safe for human and animal consumption (SCP, 1998; EFSA, 2004a; 2005a,b,c).

The endogenous maize EPSPS enzyme is sensitive to the action of the herbicide glyphosate. No adverse effects have been linked to the occurrence of this enzyme in maize and other plant foods and feeds. The CP4 EPSPS and CP4 EPSPS L214P variants present in the NK603 parental maize line are tolerant to the action of glyphosate. The variant enzymes have been evaluated and found to be safe for human and/or animal consumption in several earlier applications (EFSA, 2003a,b).

No new genes in addition to those occurring in the parental maize lines have been introduced in maize 1507 x NK603. Given the functional properties of the proteins, the Panel concludes that interactions between the expressed proteins are unlikely.

4.2.4.2. Toxicological assessment of new constituents other than proteins

As summarized in section 3.2.3., no relevant changes in composition of maize 1507 x NK603 in relation to the non-GM comparator has been observed. Therefore no further safety assessment of new constituents in 1507 x NK603 is warranted.

4.2.4.3. Toxicological assessment of the whole GM food/feed

The genetically modified maize events 1507 and NK603 have previously been found safe for human and animal consumption, and for the environment (EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b). A molecular characterization undertaken on maize 1507 x NK603 identified no altered stability of the two events when these were brought together by crossing, and expression analysis of the Cry1F, PAT and CP4 EPSPS proteins similarly revealed no change in protein expression. As also

no indication for interaction between the newly expressed proteins was found and the composition of maize 1507 x NK603 is comparable with that of non-GM maize hybrids, the GMO Panel is of the opinion that the maize 1507 x NK603 is as safe as any other commercial maize hybrid. These interpretations have been strengthened by a 42-day nutritional feeding study with maize 1507 x NK603 on broiler chicken. Therefore, the Panel has found no reason to ask for a 90-day feeding toxicology study in rats.

4.2.5. Allergenicity

The strategies used when assessing the allergenic risk focus on the characterisation of the source of the recombinant protein, the potential of the newly expressed protein to induce sensitisation or to elicit allergic reactions in already sensitised persons and whether the transformation may have altered the allergenic properties of the modified food. A weight-of-evidence approach is recommended, taking into account all of the information obtained with various test methods, since no single experimental method yields decisive evidence for allergenicity (CAC, 2003; EFSA, 2004b).

4.2.5.1 Assessment of allergenicity of the newly expressed proteins

An allergy risk evaluation of CP4 EPSPS, PAT and Cry1F proteins has been completed using different approaches. From indirect evidence the risk of allergenicty for either protein was determined as being very low. This evidence included the absence of known allergenicity of the source, absence of sequence homology with known allergens and rapid and extensive degradation by pepsin (Metcalfe et al., 1996; CAC, 2003; EFSA, 2004b). Previous applications of maize hybrids expressing the CP4 EPSPS, PAT or Cry1F protein have used the same strategy and have been evaluated by national competent authorities, the EC Scientific Committees and EFSA (SCP, 1998; EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b,c) and also been approved within the European Community (EC, 1997a; 2004a,b; 2005a,b; 2006). The GMO Panel is not aware of any new information on allergenicity that requires a change in this opinion. Also, the GMO Panel is not aware of any new validated tests, that produce more relevant or accurate information on possible allergenicity of the protein, and that would provide a higher guarantee of safety.

A European country mentioned literature on immunogenicity and adjuvanticity of Cry proteins. After intraperitoneal or intragastric administration of Cry1Ac to mice at relatively high dosage, IgG, IgM and mucosal IgA response were induced, but no IgE response was observed (Vazquez-Padron *et al*., 1999a; 2000). This demonstrates that Cry1Ac has no or low allergenic potential. This is also supported by recent bioinformatic studies carried out by the Swedish National Food Administration using a newly developed methodology (Soeria-Atmadja *et al*., 2004; Bjorklund *et al*., 2005) showing the absence of sequence homology between Cry1Ac and known allergens (unpublished results).

In the same mouse model, Cry1Ab has been shown to act as an adjuvant *e.g.* it enhances the mucosal and/or the systemic antibody response to a protein which is co-administered with the Cry protein (Vazquez *et al*., 1999b; Moreno-Fierros *et al*., 2003). As maize is not a common allergenic food and as the newly expressed proteins present in maize1507 x NK603 have not been shown to be allergenic, any adjuvant effect of Cry proteins, observed after high dosage intragastric or intranasal administration will not raise any concerns regarding allergenicity.

4.2.5.2 Assessment of allergenicity of the whole GM plant or crop

Risk assessment of the whole GM plant must consider whether allergenicity of the whole crop could be increased as an unintended effect of the random insertion of the transgene in the genome of the host, for example through qualitative or quantitative modification of the pattern of expression of endogenous proteins. Such unintended effects may occur at each genetic modification (*i.e.* in maize 1507 and in NK603). The issue of a potential increased allergenicity

of maize 1507 x NK603 does not appear relevant to the Panel since maize is not considered a common allergenic food. Food allergies to maize are of low frequency and mainly occur in populations of specific geographic areas. Rare cases of occupational allergy to maize dust have been reported. There is no reason to expect that the use of GM maize will significantly increase the intake and exposure to maize. Therefore a possible over-expression of any endogenous protein, which is not known to be allergenic, would be unlikely to alter the overall allergenicity of the whole plant or the allergy risk for consumers.

4.2.6. Nutritional assessment of GM food/feed

In previous assessments the nutritional equivalence between maize 1507 or maize NK603 and their respective non-GM comparators was established (EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b).

A total of 840 Ross/Cobb commercial broiler chicks were used in a 42-day study to evaluate the nutritional characteristics of maize grain derived from the GM maize 1507 x NK603. The study consisted of seven treatments in which maize grain derived from crops treated with either two consecutive applications of glyphosate or two consecutive applications of glufosinate-ammonium or one application each of both herbicides were compared with grain produced from a near-isogenic non-GM variety and three commercial hybrids. Each treatment consisted of 12 replicates each of which contained 10 broilers (5 male and 5 female), which gave 120 broilers/treatment. Study diets were formulated to National Research Council (NRC) requirements and contained 53 to 62% maize grain. Animal performance on the various diets were evaluated by measuring feed intake, mortality, weight gain, carcass yields (pre and post chill) for thighs, breasts, wings, abdominal fat, kidney and liver, and feed efficiency. The comprehensive data provided during the starter, growing and finishing periods, in which the growth and performance of broilers fed control, reference and test diets were compared, supports the conclusion that the transgenic maize 1507 x NK603 is nutritionally comparable with its near-isogenic non-GM counterpart and the commercial varieties included in the study.

4.2.7. Post-market monitoring of GM food/feed

Maize 1507 x NK603 is intended to have improved agronomic properties. From a nutritional point of view, maize 1507 x NK603 is equivalent to conventional maize and will be used as any other maize. The risk assessment concluded that maize 1507 x NK603 is as safe as its non-GM comparators. The GMO Panel is of the opinion that a post-market monitoring of the GM food/feed is not regarded necessary.

4.2.8. Residues and metabolites of the herbicides

A Member State raised the issue of the possible occurrence of glufosinate and glyphosate residues and their metabolites in maize 1507 x NK603, and the effects of these compounds on animal and human health, and the environment. The GMO Panel recognizes the importance of the issue and notes that the risk assessment of such compounds is within the scope of Directive 91/414/EEC (EC, 1991).

4.3. Conclusion

Evidence has been provided in previous evaluations that there is no acute toxicity from the Cry1F, PAT and CP4 EPSPS proteins. The results of 90-day sub-chronic rodent studies in rats with 1507 and NK603 maize, respectively, have been assessed in previous applications by the GMO panel and do not indicate adverse effects from consumption of 1507 and NK603 maize.

No new genes in addition to those occurring in the parental maize lines have been introduced in maize 1507 x NK603. The molecular characterization of 1507 x NK603 revealed no unexpected changes. No interactions between the newly expressed proteins were identified, or any risks from altered allergenicity. In addition, no relevant differences in composition between 1507 x NK603 maize and its appropriate non-transgenic comparators were found. The GMO Panel therefore accepts the applicant's argument that no rodent toxicity study with grains of 1507 x NK603 is required to conclude that 1507 x NK603 maize is as safe for human and animal health as conventional maize.

1507 and NK603 maize have been studied in separate nutritional feeding studies with broilers and showed no adverse effects. A 42-day feeding study on broiler chicken with 1507 x NK603 was also adequate to establish nutritional equivalence, confirmed that the nutritional properties of maize 1507 x NK603 would be no different from those of conventional maize.

An allergy risk evaluation of the CP4 EPSPS and Cry1Ab proteins was completed, providing indirect evidence for a low probability of allergenicity. A hypothetical altered allergenicity of the whole crop due to the genetic modification does not appear to be relevant to the GMO Panel since maize is not considered a common allergenic food.

The GMO Panel concludes that maize 1507 x NK603 is as safe and nutritious as conventional counterparts.

5. Environmental risk assessment and monitoring plan

5.1. Issues raised by Member States

Comments from Member States included the following: (1) a need to address the impact of unintended release and the effects of the combination of newly expressed proteins on non-target species; (2) a need to address the consequence of water and soil exposure to the toxins present in maize 1507 x NK603 via organic waste material and litter or sewage, which occur during processing or through spillage; (3) a need for a more detailed post-market monitoring plan including more details on general surveillance methods.

5.2. Evaluation of relevant scientific data

5.2.1. Evaluation of the single events

1507 and NK603

The assessed notifications C/NL/00/10 for maize 1507 and C/ES/00/01 for maize NK603 concerned import, while notification C/ES/01/01 for maize 1507 includes cultivation. Thus, there was no requirement for scientific information on possible environmental effects associated with the cultivation of maize NK603. The GMO Panel agreed with the conclusions of the environmental risk assessment by the applicant that the likelihood of unintended environmental effects due to the adventitious release and spread of NK603 maize will not be different from that of traditionally bred maize. Moreover, a monitoring plan including general surveillance was proposed by the applicant and accepted by the EFSA GMO Panel for maize 1507. In conclusion, the Panel having considered all the evidence provided, was of the opinion that maize 1507 and maize NK603 are as safe as conventional maize and therefore their placing on the market for food or feed or processing and, in the case of 1507, for cultivation, is unlikely to have an adverse effect on human or animal health or, in that context, on the environment (EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b).

5.2.2. Environmental risk assessment

5.2.2.1. Potential unintended effects on plant fitness due to the genetic modification

Maize is highly domesticated and generally unable to survive in the environment without cultivation. Maize plants are not winter hardy in many parts of Europe. They have lost their ability to release seeds from the cob and they do not occur outside cultivated or disturbed land in Europe, despite cultivation for many years. In addition, there are no cross-compatible wild relatives in Europe, and gene flow via pollen is largely restricted to neighbouring crops.

This application is for food and feed uses, import and processing only. Maize is a hybrid crop and thus imported grain will be a segregated F2 generation with individual grains containing differing levels of the transgenic components of this hybrid. The herbicide tolerance traits can only be regarded as providing a selective advantage where and when glufosinate-ammonium or glyphosate containing herbicides are applied, *e.g.* on arable land. Insect protection against lepidopteran pests is also not regarded as providing a selective advantage for maize in Europe, as survival is mainly determined by the absence of a dormancy phase, susceptibility to diseases and susceptibility to cold climate conditions. Therefore it is considered very unlikely that volunteers of this GM maize or its progeny will differ from conventional hybrid maize in their ability to survive until subsequent seasons or establish undesirable populations under European environmental conditions.

Since maize 1507 x NK603 has no altered survival, multiplication or dissemination characteristics except in the presence of the specific herbicide or target organisms, the Panel is of the opinion that the likelihood of unintended environmental effects due to the establishment and spread of this maize will be no different to that of 1507 or NK603 maize and conventional maize varieties.

5.2.2.2. Potential for gene transfer

A prerequisite for any horizontal gene transfer is the availability of pathways for the transfer of transgenic DNA.

Exposure of microorganisms to transgenic DNA derived from GM maize plants takes place in the environment during natural decay of the plant material in agricultural areas. In addition transgenic DNA is a component of many of the food and feed products derived from the GM maize. Therefore microorganisms in the digestive tract of humans and animals (domesticated animals and other animals feeding on fresh and decaying GM plant material) may be exposed to transgenic DNA.

Gene flow between plants can occur when transgenic pollen is shed and distributed from cultivated GM maize or from plants resulting from the adventitious presence of GM kernels in conventionally bred maize seeds. A further but less likely pathway of dispersal of transgenic maize pollen is the flowering of volunteer GM maize plants originating from accidental spillage of GM seed during transport and/or processing. For *Zea mays* any vertical gene transfer is limited to other maize plants as populations of sexually compatible wild relatives of maize are not known in Europe.

(a) Plant to bacteria gene transfer

Based on present scientific knowledge and elaborated recently in more detail (EFSA, 2004c), gene transfer from GM plants to bacteria under natural conditions is extremely unlikely, and would occur primarily through homologous recombination in microbes.

The *cry*1F, *pat,* and *cp4 epsps* genes are under the control of eukaryotic promoters with little or no activity in prokaryotic organisms. Genes under control of prokaryotic regulatory elements conferring the same traits as expressed in the GM plants are widespread in microorganisms in natural environments.

Taking into account the origin and nature of the *cry, pat* and *cp4 epsps* genes and the lack of selective pressure in the intestinal tract and/or the environment, the likelihood that horizontal gene transfer would result in increased fitness on microorganisms or other selective advantages is very small. For this reason it is very unlikely that *cry, pat* and *cp4 epsps* genes from maize 1507 x NK603 would become established in the genome of microorganisms in the environment or in the human and animal digestive tract. In the very unlikely event that such a horizontal gene transfer would take place, no adverse effects on human and animal health and the environment are expected as no specifically new traits would be introduced into microbial communities.

(b) Plant to plant gene transfer

Transgenic pollen is shed and distributed from cultivated GM hybrids or from plants resulting from the adventitious presence of GM kernels in conventionally bred maize seeds. A further but less likely pathway of dispersal of transgenic maize pollen is the flowering of volunteer GM maize plants originating from accidental seed spillage during transport and/or processing. The extent of cross-pollination to conventionally bred hybrids will mainly depend on the scale of accidental release and/or adventitious presence in conventional seeds. For *Zea mays* any vertical gene transfer is limited to other maize plants as populations of sexually compatible wild relatives of maize are not known in Europe.

The applicant's field trials have shown that there are no indications for an altered fitness of the GM maize in comparison to conventionally bred hybrids with similar genetic background.

Insect protection against lepidopteran pests is also not regarded as providing a selective advantage for maize in Europe, as maize survival is mainly limited by the absence of a dormancy phase, susceptibility to disease and susceptibility to cold climate conditions. Therefore, as for any other maize cultivars, volunteers would only survive in subsequent seasons in the warmer regions of Europe and are not likely to establish feral or undesirable populations under European environmental conditions.

Studies in Europe and elsewhere with maize 1507 and maize NK603 have not shown any enhanced weediness or fitness, except in the presence of the specific herbicides.

Since enhanced survival, multiplication or dissemination characteristics are only likely when maize 1507 x NK603 is cultivated in the presence of the specific herbicides or target insects, the Panel is of the opinion that the likelihood of unintended environmental effects due to the establishment and spread of this maize in Europe will be no different to that of maize 1507 or maize NK603 and conventionally bred maize.

5.2.2.3. Potential interactions of the GM plant with non-target organisms

The GMO Panel assessed whether Cry proteins might potentially affect non target organisms by entering the environment in manure and faeces from the gastrointestinal tracts of animals fed on this maize. Data supplied by the applicant and literature on other Cry proteins (Ahmad *et al*., 2005 and references therein; Lutz *et al*., 2005) suggests that most proteins would be degraded by the enzymatic activity in the gastrointestinal tract so that low amounts of Cry proteins would remain intact to pass out in faeces. There would subsequently be further degradation of these proteins in the manure and faeces due to microbial processes. In addition other sources of environmental exposure for example soil and water, and disposal of organic wastes are likely to be very low and localized (Baumgarte & Tebbe, 2005; Hopkins & Gregorich, 2003). Thus

exposure of potentially sensitive non-target organisms to the Cry1F toxin is likely to be very low and of no ecological significance. No evidence of released Bt toxins, PAT or EPSPS proteins causing significant negative effects on soil microorganisms has been published.

5.2.3. Monitoring

The objectives of a monitoring plan according to Annex VII of Directive 2001/18/EC (EC, 2001) are to confirm that any assumption regarding the occurrence and impact of potential adverse effects of the GMO, or its use, in the environmental risk assessment are correct and to identify the occurrence of adverse effects of the GMO, or its use, on human health or the environment which were not anticipated in the environmental risk assessment. The scope of the monitoring plan provided by the applicant is in line with the intended uses for the GMO since the environmental risk assessment did not cover cultivation and identified no potential adverse environmental impacts.

General surveillance is related to risk management, and thus a final adoption of the general surveillance plan falls outside the mandate of EFSA. However, the GMO Panel gives its opinion on the scientific quality of the general surveillance plan provided by the applicant. The only significant exposure of the environment to the transgenic maize would be related to accidental spillage.

Since the main use of maize 1507 x NK603 will be animal feeds, the applicant proposed that general surveillance should concentrate on monitoring the health of those exposed to the processing of the animal feed as well as the animals fed on this maize.

The GMO Panel recommends that the applicant should consider appropriate management and monitoring systems to restrict environmental exposure of viable grains, as recommended by the EFSA Guidance on post-market environmental monitoring (EFSA, 2006). In other respect the GMO Panel is of the opinion that the general approaches and measures of the monitoring plan proposed by the applicant are in line with the intended uses of maize 1507x NK603 since the environmental risk assessment did not cover cultivation and identified no potential adverse environmental effects.

5.3. Conclusion

Maize 1507 x NK603 is being assessed for import, processing and uses as food/feed and thus there is no requirement for scientific information on environmental effects associated with cultivation. Maize is highly domesticated and not able to survive in the environment without cultivation. The GMO Panel considered the environmental comments raised by the Member States in the above sections of Chapter 5 and concludes as follows: the likelihood of the establishment and spread of this maize is very low and the unintended environmental effects due to this GM maize will be no different to that of conventional maize varieties. The GMO Panel also considers unlikely that the newly expressed proteins will have any adverse effects on the environment, including on non target organisms.

The scope of the monitoring plan provided by the applicant is in line with the intended uses for the GMO since this does not include cultivation. The GMO Panel recommends that the applicant should consider appropriate management and monitoring systems to restrict environmental exposure of viable grains.

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

The GMO Panel assessed maize 1507 x NK603, which is produced by a cross between inbred lines of maize containing the 1507 and NK603 events, for food and feed uses, import and processing. Maize 1507 and maize NK603 were evaluated previously (EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b). Both maize NK603 and maize 1507 have been authorized by the European Commission (EC, 2004a; 2005a,b; 2006). In assessing the maize 1507 x NK603, both the single events and the maize 1507 x NK603 were considered. The Panel concluded that it was acceptable to use data for the single events 1507 and NK603 in support of the safety assessment of the maize 1507 x NK603 and that the information available for maize 1507 x NK603 addresses the scientific comments raised by the Member States.

The Panel considers that the maize 1507 x NK603 is as safe as its conventional counterparts with respect to effects on human and animal health and the environment and therefore concludes that this maize is unlikely to have any adverse effect on human and animal health and the environment in the context of its indented uses.

DOCUMENTATION PROVIDED TO EFSA

1. Letter from the UK Competent Authority (Food Standards Agency), dated 1 October 2004 concerning the submission to EFSA of application maize 1507 x NK603 within the framework of Regulation (EC) No 1829/2003.

2. Letter from EFSA to applicant, dated 11 November 2005, requesting additional information during the completeness check (Ref. SR/MR/jq/ (2004) 959).

3. Letter from applicant to EFSA, dated 12 January 2005, providing the information requested during the completeness check.

4. Letter from EFSA to applicant, dated 1 April 2005, concerning the "Statement of Validity" for application EFSA-GMO-UK-2004-05 on maize 1507 x NK603 submitted under Regulation (EC) No 1829/2003 (Ref. SR/KL/jq (2005) 065).

5. Submission of the application EFSA-GMO-UK-2004-05 by the applicant to EFSA, containing:

   Part I – technical dossier
   Part II – summary
   Part III – Cartagena Protocol
   Part IV – labelling proposal
   Part V – samples and detection method
   Part VI – additional information for GMOs

6. Letter from CRL (IHCP-JRC), dated 22 March 2005, concerning the completeness of application EFSA-GMO-UK-2004-05 in accordance with Article 5(3)(i) and (j) and Article 17(3)(i) and (j) of Regulation (EC) 1829/2003 (JRC 106-BGMO/GVDE/ D (2005)(70)6949).

7. Letter from EFSA to applicant, dated 15 July 2005, to stop the clock, requesting additional information for application EFSA-GMO-UK-2004-05 on 1507 x NK603 maize submitted under Regulation (EC) No 1829/2003 (Ref. SR/AC/jq/ (2005) 944).

8. Comments of the Member States, including the national Competent Authorities within the meaning of Directive 2001/18/EC following the requirements of Article 6(4) and 18(4) of Regulation (EC) No 1829/2003 (GMO EFSAnet).

9. Letter from applicant to EFSA, dated on 28 September 2005, providing additional information requested on 15 July, in the context of application EFSA-GMO-UK-2004-05 on 1507 x NK603 maize submitted under Regulation (EC) No 1829/2003 .

10. Letter from EFSA to applicant, dated 24 October 2005, requesting complete additional information for application EFSA-GMO-UK-2004-05 on 1507 x NK603 maize submitted under Regulation (EC) No 1829/2003 (Ref. SR/AC/KL/jq/ (2005) 1264).

11. Letter from applicant to EFSA, dated on 3 February 2006, providing the complete additional information requested on 15 July, in the context of application EFSA-GMO-UK-2004-05 on 1507 x NK603 maize submitted under Regulation (EC) No 1829/2003.

REFERENCES

Ahmad, A., Wilde G.,E., Zhu K., Y., 2005. Detectability of Coleopteran-specific Cry 3Bb1 protein in soil and its effect on nontarget surface and below-ground arthropods. Environmental Entomology, 34, 385-394.

Baumgarte, S. & Tebbe, C., 2005. Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. Molecular Ecology, 14, 2539-2551.

Bjorklund, A.K., Soeria-Atmadja, D., Zorzet, A., Hammerling, U. & Gustafsson, M.G., 2005. Supervised identification of allergen-representative peptides for in silico detection of potentially allergenic proteins. Bioinformatics, 21, 39-50.

CAC, 2003. Codex principles and guidelines on foods derived from biotechnology. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Agriculture Organisation, Rome. http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/007/y5819e/y5819e00.htm

EC, 1991. Council Directive 91/414/EEC of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market. Official Journal of the European Communities L230, 1-32.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31991L0414:EN:HTML

EC, 1997a. 97/98/EC Commission Decision of 23 January 1997 concerning the placing on the market of genetically modified maize (Zea mays L.) with the combined modification for insecticidal properties conferred by the Bt-endotoxin gene and increased tolerance to the herbicide glufosinate-ammonium pursuant to Council Directive 90/220/EEC.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31997D0098:EN:HTML

EC, 1997b. Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients. OJ, L43, 1-6.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31997R0258:EN:HTML

EC, 2001. Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. OJ, L106, 1-39.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0018:EN:HTML

EC, 2003. Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed. OJ, L268, 1-23.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1829:EN:HTML

EC, 2004a. 2004/643/EC: Commission Decision of 19 July 2004 concerning the placing on the market, in accordance with Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council, of a maize product (Zea mays L. line NK603) genetically modified for glyphosate tolerance (notified under document number C(2004) 2761)(Text with EEA relevance). OJ, L295, 35-37.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004D0643:EN:HTML

EC, 2004b. 2004/657/EC: Commission Decision of 19 May 2004 authorising the placing on the market of sweet corn from genetically modified maize line Bt11 as a novel food or novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council (notified under document number C(2004) 1865). OJ, L300, 48-51.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004D0657:EN:HTML

EC, 2005a. 2005/448/EC: Commission Decision of 3 March 2005 authorising the placing on the market of foods and food ingredients derived from genetically modified maize line NK 603 as novel foods or novel food ingredients under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council (notified under document number C (2005) 580). OJ, L158, 20-22.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32005D0448:EN:HTML

EC, 2005b. 2005/772/EC: Commission Decision of 3 November 2005 concerning the placing on the market, in accordance with Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council, of a maize product (Zea mays L., line 1507) genetically modified for resistance to certain lepidopteran pests and for tolerance to the herbicide glufosinate-ammonium Council (notified under document number C (2005) 4192). OJ, L291, 42-44.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:291:0042:01:EN:HTML

EC, 2006. 2006/197/EC: Commission Decision of 3 March 2006 authorising the placing on the market of food containing, consisting of, or produced from genetically modified maize line 1507 (DAS-Ø1507-1) pursuant to Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council OJ, L70, 82-86.
http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:070:0082:01:EN:HTML

EFSA, 2003a. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference CE/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-003). EFSA Journal, 10, 1-13.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/176/opinion_gmo_03_final_en1.pdf

EFSA, 2003b. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-002). EFSA Journal 9, 1-14.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/177/opinion_gmo_02_final_en1.pdf

EFSA, 2004a. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference C/NL/00/10) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds, The EFSA Journal, 124, 1-18.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/663/finalopinion1507maize_import2.pdf

EFSA, 2004b. Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. (Question No EFSA-Q-2003-005a) EFSA Journal 99, 1-94.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_guidance/660_en.html

EFSA, 2004c. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. EFSA Journal, 48, 1-18.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/384/opinion_gmo_05_en1.pdf

EFSA, 2005a. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the notification (Reference C/ES/01/01) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds, The EFSA Journal (2005) 181, 1-33.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/827/op_gm08_ej181_1507_opinion_doc1_2en1.pdf

EFSA, 2005b. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds, The EFSA Journal (2005) 182, 1-22.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/826/gmopanelriskassessment1.pdf

EFSA, 2005c. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the notification (Reference C/F/96/05.10) for the placing on the market of insect resistant genetically modified maize Bt11, for cultivation, feed and industrial processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Syngenta Seeds, The EFSA Journal (2005) 213, 1-33.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/922/gmo_opinion_ej213_bt11maize_cultivation_en1.pdf

EFSA, 2006. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the Post Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants. EFSA Journal 319, 1-27.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/1381/gmo_op_ej319_pmem_en1.pdf

Hopkins, D.W. and Gregorich E.G., 2003. Detection and decay of the Bt endotoxin in soil from a field trial with genetically modified maize. European Journal of Soil Science, 54, 793-800.

Moreno-Fierros, L., Ruiz-Medina, E.J., Esquivel, R., López-Revilla, R. & Piña-Cruz, S., 2003. Intranasal Cry1Ac protoxin is an effective mucosal and systemic carrier and adjuvant of Streptococcus pneumoniae polysaccharides in mice. Scand J Immunol., 57, 45-55.

Metcalfe, D.D., Astwood, J.D., Townsend, R., Sampson, H.A., Taylor, S.L. and Fuchs, R.L., 1996. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. Crit. Rev. Food. Sci. Nutr., 36(S), 165-186.

Lutz, B., Wiedemann, S., Einspanier, R., Mayer, J., Albrecht, C., 2005. Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize in the bovine gastrointestinal tract. Agric. Food Chem., 53(5), 1453-1456.

OECD, 2002. Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (Zea Mays): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No. 6, Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris.
http://www.olis.oecd.org/olis/2002doc.nsf/87fae4004d4fa67ac125685d005300b3/ef5acb7d10c9cd66c1256c1b004323e8/$FILE/JT00130429.PDF

SCP, 1998. Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding "submission from placing on the market of glufosinate tolerant corns (Zea mays) transforrmation event "T25" by the AgrEvo Company (Notification C/F/95/12/07).
http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scp/out04_en.html

Soeria-Atmadja, D., Zorzet, A., Gustafsson, M &Hammerling, U., 2004. Statistical evaluation of local alignment features for prediction of allergenicity using supervised classification algorithms. International Archives of Allergy and Immunology, 133, 101-112.

Vazquez-Padron, R.I., Moreno-Fierros, L., Neri-Bazan, L., De la Riva, G.A. & Lopez-Revilla, R., 1999a. Intragastric and intraperitoneal administration of Cry1Ac protoxin from Bacillus thuringiensis induce systemic and mucosal immune response in mice. Life Sciences, 64, 1897-1912.

Vazquez, R.I., Moreno-Fierros, L., Neri-Bazan, L., de la Riva, G.A. & Lopez-Revilla, R., 1999b. Bacillus thuringiensis Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. Scand J. Immunol., 49, 578-584.

Vazquez-Padron, R.I., Moreno-Fierros, L., Neri-Bazan, L., Martinez-Gil, A.F., De la Riva, G.A. & Lopez-Revilla, R., 2000. Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from Bacillus thuringiensis HD 73 in mice. Braz J Med Biol Res., 33, 147-55.

SCIENTIFIC PANEL MEMBERS

Hans Christer Andersson, Detlef Bartsch, Hans-Joerg Buhk, Howard Davies, Marc De Loose, Michael Gasson, Niels Hendriksen, John Heritage, Sirpa Kärenlampi, Ilona Kryspin-Sørensen, Harry Kuiper, Marco Nuti, Fergal O'Gara, Pere Puigdomenech, George Sakellaris, Joachim Schiemann, Willem Seinen, Angela Sessitsch, Jeremy Sweet, Jan Dirk van Elsas and Jean-Michel Wal.

ACKNOWLEDGEMENT

The GMO Panel wishes to thank Gijs Kleter and Richard Phipps for their contributions to the draft opinion.

ANEXO IV. Protocolo I: Equivalencia agronómica funcional de híbridos de maíz genéticamente modificados (GM) en evaluaciones de campo en Sinaloa. DAS-01507-1, MON-00603-6 y DAS-01507-1x MON-00603-6. (Se incluyen tres eventos, pues la metodología se aplicará simultáneamente en campo para los tres)

Protocolo Número: **1**

Título del Estudio: **Equivalencia agronómica funcional de híbridos de maíz genéticamente modificados (GM) en evaluaciones de campo en el estado de Sinaloa. DAS-01507-1, MON-00603-6 y DAS-01507-1x MON-00603-6.**

Responsable: **PHI México SA de CV y Dow AgroSciences de México SA de CV**

Director del Estudio: **Fernando González Ceniceros**

Listado de los nombres e información de contacto de los investigadores responsables de la evaluación. (Los CV se encuentran en el anexo XIII)

Fernando González Ceniceros
Gerente de Investigación MD
PHI México, S.A. de C.V.
Km. 1.6 Poniente
San Miguel Cuyutlán C.P. 44660
Mpio. de Tlajomulco de Zuñiga, Jal.
Tel. (33) 3772-4290
Fax. (33) 3772-4293
fernando.gonzalez@pioneer.com

Maria Mateos Hernández
Asociado de Investigación Senior
PHI México, S.A. de C.V.
Km. 1.6 Poniente
San Miguel Cuyutlán C.P. 44660
Mpio. de Tlajomulco de Zuñiga, Jal.
Tel. (33) 3772-4290
maria.mateos@pioneer.com

Juan Carlos Martínez Nicolás
Asociado de Regulación Senior
PHI México, S.A. de C.V.
Carr. Guadalajara-Morelia, KM 21-8601-A
Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco.
CP. 45645. Tel. (33) 36 79 79 79
juan.martinez@pioneer.com

Gary D. Thompson
PG&B insect traits
Dow AgroSciences
Tel. 001 (317) 337-4579
gdthompson@dow.com

Leonel Avilés Morales
Investigación y Desarrollo
Dow AgroSciences
Culiacán, Sin.
Tel. 667-751-2234 (Móvil)
LAVILESMORALES@dow.com

Regiones en el estado de Sinaloa en donde se solicita realizar la liberación experimental

1. Región de Los Mochis
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

2. Región del Valle de Culiacán
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

3. Región de La Angostura
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

4. Región de Navolato
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

1. Antecedentes y objetivo.

1.1. Antecedentes.

Los híbridos de maíz genéticamente modificados (GM) fueron desarrollados mediante retrocruzamiento del progenitor donador del gen con líneas endogámicas elite no transformadas. En este estudio, los materiales híbridos GM se compararán con sus contrapartes no modificadas (isohíbridos) para determinar si las características fenotípicas de los materiales modificados fueron alteradas por la presencia de los eventos integrados GM: DAS-01507-1, MON-00603-6 y DAS-01507-1 x MON-00603-6.

1.2. Objetivo.

El objetivo del presente estudio es generar los datos que permitan estimar si la modificación genética de los eventos DAS-01507-1, MON-00603-6 y DAS-01507-1x MON-00603-6 han alterado la equivalencia agronómica en comparación con su control no modificado.

2. Cumplimiento de los requisitos regulatorios y de control de calidad.

2.1. Cumplimiento con los requisitos regulatorios.

Los estudios se llevarán a cabo bajo la coordinación de personal de las empresas y los investigadores mencionados. La siembra de los experimentos se realizará una vez que se cuente con el permiso de liberación al ambiente correspondiente así como el permiso de importación por parte de las autoridades competentes para todos y cada uno de los maíces GM propuestos.

2.2. Requerimientos de control de calidad.

Se describen las expectativas mínimas de calidad para la realización del estudio y su documentación dentro de este protocolo.

3. Duración del estudio.

3.1. Fecha de inicio propuesta: Ver cuadro 2.

4.0. Diseño del estudio.

4.1. Materiales de prueba, controles y referencia de los maíces híbridos GM.

4.1.1. Materiales de prueba GM.

1.- DAS-01507-1
2.- MON-00603-6
3.- DAS-01507-1x MON-00603-6

4.1.2. Controles.

El híbrido convencional a utilizar como control de la evaluación, fue desarrollado mediante mejoramiento genético tradicional, el cual posee un fondo genético común al maíz transformado con el evento DAS- 01507-1

4.1.3. Referencias.

Los materiales de referencia son híbridos comerciales que no expresan la característica de cada evento específico incluidos en este estudio. En este estudio, se incluirán plantas GM, el control isogénico y un híbrido comercial con diferente fondo genético al maíz GM y a su línea isohíbrida. Las referencias se incluyen para proporcionar información sobre la variabilidad natural que es común a los materiales de maíz híbrido.

4.2. Caracterización de la semilla inicial de prueba y control.

Se utilizarán tiras reactivas para la verificación de los materiales GM y sus controles correspondientes.
La semilla del material de referencia se obtendrá de PHI México SA de CV/Dow AgroSciences de México SA de CV.

4.3. Justificación de los sitios seleccionados para el estudio.

Los experimentos se localizarán en las tierras de agricultores cooperantes, en las regiones referidas en las solicitudes de liberación al medio ambiente que amparan a este Protocolo de Investigación. Estas localidades son representativas de las áreas de producción agrícola en México. El manejo agronómico será de acuerdo a las guías técnicas para el cultivo del maíz desarrolladas por INIFAP para dichas zonas.

4.4. Características y descripción del área donde se realizará el estudio.

El investigador principal proporcionará la caracterización y descripción del área de estudio. La información incluirá; tipo de suelo, % de materia orgánica, pH, pendiente y el historial de cultivos de dos años en la localidad.

4.5. Procedimiento para la identificación de las parcelas.

Los ensayos serán debidamente identificados y cada parcela será etiquetada con un número único tal como se asigna en la sección de aleatorización de la parcela.

4.6. Embarque, recepción y almacenamiento de la semilla para iniciar el experimento.

Se cumplirá con los requerimientos establecidos por SAGARPA para el embarque, recepción y almacenamiento de la semilla experimental.

4.7. Prevención de la mezcla involuntaria de las semillas para iniciar la evaluación y del grano a cosechar.

Cada material será manejado empleando bolsas o sobres de campo perfectamente identificados e independientemente embalados.

4.8. Descripción del diseño experimental.

4.8.1. Información sobre parcelas.

El investigador principal de cada estudio establecerá las plantas de los materiales de prueba, controles y referencias bajo un diseño de bloques completos al azar con parcelas apareadas y cuatro repeticiones.

La aleatorización de las parcelas (números de las parcelas y sus correspondientes números de materiales) para cada sitio de estudio será predeterminado y proporcionado en la sección correspondiente del libro de campo (La aleatorización aparece ya en el croquis al final de este protocolo)

Cada repetición consistirá de 8 surcos distribuidos en 4 grupos. Las parcelas corresponderán a:

1) 2 surcos del híbrido de referencia
2) 2 surcos del isohíbrido convencional
3) 2 surcos del híbrido GM
4) 2 surcos del híbrido de referencia (ver croquis).

Los grupos 2 y 3 corresponderán a las parcelas apareadas. El híbrido de referencia se colocará a los extremos de las parcelas apareadas para evitar el efecto de borde
Cada surco será de 5 metros de largo con un espacio entre surcos de 0.8 metros.
El ensayo completo será rodeado con un bordo de maíz convencional que consistirá de 4 surcos, el cual será sembrado al momento del establecimiento del experimento.

Cuadro 1. Cantidad de semilla de maíz GM a utilizar en cada localidad

Tratamiento	**Surcos**	**Metros de siembra/ parcela** (1)	**Semillas/ parcela** (2)	**Semillas/ ensayo** (3)	**Cantidad en kg** (4)
1. DAS-01507-1	2	10	90	360	0.120
2. MON-00603-6	2	10	90	360	0.120
3.DAS-01507-1x MON-00603-6	2	10	90	360	0.120

(1) 2 surcos de 5 m cada uno = 10 m.
(2) 9 semillas/m, 90 semillas/10 m.
(3) 90 semillas/parcela x 4 parcelas (4 repeticiones) = 360 semillas/ensayo.
(4) Cantidad en kg (kg) = (Semilla por ensayo)/3000 = 0.120 kg (3000 semillas = 1 kg).

Se anexa un croquis representativo del ensayo y se indica el detalle de cada parcela.

Cuadro 2. Localidades, fechas de siembra y cantidad total de semilla requerida para la evaluación de la equivalencia agronómica funcional del maíz GM en las diferentes regiones de Sinaloa

Sitio propuesto para el programa	Fecha de importación la semilla (2009)	Fecha límite siembra (2009)	Superficie		Total de semilla de maíz GM (kg)
			Superficie total del experimento (m^2) (1)	Superficie de maíz GM (m^2) (2)	
Los Mochis	Octubre	Noviembre	891	96	0.360
Valle de Culiacán	Octubre	Noviembre	891	96	0.360
La Angostura	Octubre	Noviembre	891	96	0.360
Navolato	Octubre	Noviembre	891	96	0.360
Totales			**3564**	**384**	**1.44**

(1) Incluye parcelas experimentales con todos los materiales a evaluar, calles entre repeticiones y bordos.
(2) Superficie maíz GM para los tres eventos, considerando, 2 surcos de 5 m de largo con una separación entre surcos de 0.8 m por parcela y 4 repeticiones.

4.8.2. Distancia de aislamiento.

Se tendrá una distancia de aislamiento de cualquier otra parcela donde se siembre maíz ajeno al experimento, de **300 m a la redonda**. No se desespigarán las plantas de maíz GM.

4.8.3. Métodos de siembra.

El método de siembra será manual

Nota: Es importante que el área completa del estudio, incluyendo los surcos de bordo, sean tratados con los mismos insumos agrícolas y en las mismas dosis, para asegurar condiciones agronómicas uniformes.

4.8.3.1. Preparación del área de estudio (previo a la siembra).

El área de estudio será preparada de acuerdo a lo requerido en la localidad y a las demandas del cultivo (por ejemplo, rastras, irrigación, fertilizantes y plaguicidas) para la obtención de un cultivo agronómicamente bien manejado.

4.8.3.2. Fecha de siembra y condiciones ambientales.

La siembra se realizará en el ciclo Primavera-Verano del 2009. Los datos ambientales a ser recabados durante la siembra serán: temperatura del aire, temperatura del suelo y humedad del suelo, para lo cual se tomará una muestra representativa del lugar, en un envase con cierre hermético para evitar la pérdida de agua y se llevará a un laboratorio de suelos.

4.8.3.3. Información de la siembra.

Cada parcela será sembrada con aproximadamente 360 semillas (45 semillas por surco). En el caso de las parcelas con material GM, se sembrarán 90 semillas por los dos surcos.

Se espera que toda la semilla sea sembrada. Sin embargo, cualquier remanente de semilla después de la siembra será destruido.

4.8.3.4. Control de insectos, enfermedades y maleza (al sembrar).

El control de insectos, enfermedades y maleza se llevará a cabo de acuerdo a las guías técnicas del INIFAP para el cultivo del maíz para esta región.

4.8.4. Manejo de las parcelas durante la etapa de desarrollo del cultivo.

La totalidad del área de estudio, incluyendo los surcos de bordo, será tratada con los mismos insumos agronómicos y con las mismas dosis para asegurar condiciones agronómicas homogéneas.

4.8.4.1. Aclareo de la parcela.

Las parcelas serán raleadas para tener un máximo de 30 plantas por surco.

Nota: Si la población objetivo no se puede alcanzar debido a una pobre emergencia, todas las parcelas se deberán ralear a una densidad uniforme para asegurar que se obtenga un crecimiento, desarrollo y producción comparable entre los diferentes materiales a evaluar.

4.8.4.2. Control de insectos, enfermedades y plagas (post-siembra).

El control de insectos, enfermedades y maleza se llevará a cabo de acuerdo a la guía técnica del INIFAP para el cultivo del maíz aplicable.

Nota: En localidades con alta presión de plagas se recomienda la aplicación preventiva de insecticidas para eliminar variabilidad entre materiales *Bt* y sus correspondientes isohíbridos convencionales.

4.8.4.3. Cultivo.

El investigador principal proporcionará los detalles sobre las aplicaciones realizadas (métodos de operación y fechas) que fueron necesarias para producir un cultivo aceptable agronómicamente.

4.8.4.4. Fertilización.

El investigador principal proporcionará los detalles sobre la aplicación de fertilizantes (producto, dosis y fecha de aplicación) necesarios para producir un cultivo aceptable agronómicamente.

4.8.4.5. Riegos.

El investigador principal proporcionará los detalles de los riegos aplicados que fueron necesarios para obtener un cultivo aceptable agronómicamente.

4.9. Obtención de datos.

4.9.1. Datos fenotípicos.

Las características fenotípicas y las instrucciones para su obtención se indican en seguida.

4.9.1.1. Vigor de plántulas (VP).

Cuando el maíz alcance en promedio la etapa de desarrollo V2-V4, se determinará el valor del vigor de las plántulas. Una escala de 0-9 será utilizada en la que,
1 = muerta,
2-3 abajo del vigor promedio,
4-6 = vigor promedio y
7-9 sobre el vigor promedio.

Estos datos se deben determinar antes del raleo manual y/o la primera labor de cultivo.

4.9.1.2. Emergencia (Em).

Cuando el maíz alcance la etapa de desarrollo promedio de V2-V4, se determinará la cantidad de plántulas emergidas por parcela. Este número de plantas por parcela deberá ser determinado antes del raleo manual y/o la primera labor de cultivo.

4.9.1.3. Días a 50% de aparición de estigmas (Jl).

Se determinará la fecha en la que el 50% de las plantas de la parcela presenten estigmas de 2 cm. de largo.

4.9.1.4. "Stay green" (SG).

El "stay green" se determinará cuando el 50% de las plantas alcancen la etapa de desarrollo R6 (madurez fisiológica). Se utilizará una escala 1 – 9 donde:
1 = la planta completa se encuentra seca,
5 = las hojas bajo la mazorca se encuentran secas y las superiores verdes, y

9 = la planta completa se encuentra verde.

4.9.1.5. Altura de mazorca (AM).

La altura de la mazorca se determinará desde la superficie del suelo a la base del nudo donde se encuentra unida la mazorca. Se cuantificará cuando el 50% de las plantas alcancen la etapa de desarrollo R2 y se cuantificará la altura de la mazorca en 5 plantas representativas de cada parcela.

4.9.1.6. Altura de planta (AP).

La altura de las plantas se cuantificará desde la superficie del suelo hasta la lígula de la hoja bandera. Se determinará cuando el 50% de las plantas alcancen la etapa de desarrollo R2 y se cuantificará la altura de 5 plantas representativas de cada parcela.

4.9.1.7. Mazorcas caídas (MC).

Dentro de 4 días previos a la cosecha se cuantificará el número de mazorcas caídas por parcela. Las mazorcas caídas serán aquellas que se encuentren en el suelo completamente desprendidas de la planta.

4.9.1.8. Acame del tallo (AT).

Dentro de los 4 días previos a la cosecha se cuantificará el número de plantas por parcela quebradas por debajo de la mazorca. Los tallos quebrados por arriba de la mazorca principal no se incluirán dentro de estos datos.

4.9.1.9. Acame de raíz (AR).

Dentro de los 4 días previos a la cosecha se cuantificará el número de plantas con acame de raíz por parcela (excluyendo tallos quebrados). Las plantas con acame de raíz serán aquellas que se encuentran inclinadas en más de 30° respecto de la vertical.

4.9.1.10. Conteo final de plantas (CF).

Dentro de los 4 días previos a la cosecha se determinará el número de plantas por parcela. Las plantas con acame de tallo o raíz serán incluidas en estos datos.

4.9.1.11. Peso de la parcela (PP).

A la cosecha (o después del secado de las mazorcas cosechadas a mano, si es necesario) se cuantificará el peso del grano obtenido de cada parcela. El grano proveniente de las plantas identificadas con pudrición del tallo debe ser incluido en el peso de la parcela.

4.9.1.12. Humedad del grano (HG).

A la cosecha (o después del secado de las mazorcas cosechadas a mano, si es necesario) se cuantificará el porcentaje de humedad del grano cosechado de cada parcela.

La severidad de varios síntomas bióticos (por ejemplo, insectos, enfermedades) y abióticos (por ejemplo viento, sequía, granizo) se registrarán en las parcelas en por lo menos cuatro etapas de desarrollo: en plántulas, crecimiento vegetativo, etapa reproductiva intermedia y cosecha. En cada una de estas etapas especificadas se evaluará y anotará la severidad de los síntomas del agente de estrés por parcela en por lo menos un insecto, una enfermedad y un agente abiótico que comúnmente se presenta en el sitio de evaluación.

Se indican a continuación las características de estrés y las instrucciones para la recolección de los datos asociados.

4.10.1. Presencia de agentes estresantes en etapa de plántula.

Cuando el 50% de las plantas alcancen la etapa de desarrollo V2-V4, se observará la severidad del daño ocasionado por insectos, enfermedades y factores abióticos. Se utilizará para ello la siguiente escala, donde:
9 = ningún daño (no se observan síntomas),
6-8 = daño ligero (se observan síntomas pero no parecen ser deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas),
3-5 = daño moderado (intermedio), y
1-2 = severo (se observan síntomas deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas).

Si se observa un factor de estrés como insecto, enfermedad o factor abiótico después de la observación en etapa de plántula (V2-V4) pero antes de la observación en etapas vegetativas (V10-V15), anotar la severidad de los síntomas del agente estresante por parcela empleando la misma escala y documentar la etapa de desarrollo promedio de las plantas.

Los agentes estresantes de la raíz deberán ser identificados utilizando <u>únicamente</u> los síntomas visuales en la parte aérea de la planta.

4.10.2. Presencia de agentes estresantes en etapa de desarrollo vegetativo.

Cuando el 50% de las plantas alcancen la etapa de desarrollo V10-V15, se observará la severidad del daño ocasionado por insectos, enfermedades y factores abióticos. Se utilizará para ello la siguiente escala, donde:
9 = ningún daño (no se observan síntomas),
6-8 = daño ligero (se observan síntomas pero no parecen ser deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas),
3-5 = daño moderado (intermedio), y
1-2 = severo (se observan síntomas deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas).

Si se observa un factor de estrés como insecto, enfermedad o factor abiótico después de la etapa de desarrollo vegetativo (V10-V15) pero antes de la observación en la etapa de de floración (R1-R3), anotar la severidad de los síntomas del agente estresante por parcela empleando la misma escala y documentar la etapa de desarrollo promedio de las plantas.

4.10.3. Presencia de agentes estresantes en etapa de floración.

Cuando el 50% de las plantas alcancen la etapa de desarrollo R1-R3, se observará la severidad del daño ocasionado por insectos, enfermedades y factores abióticos. Se utilizará para ello la siguiente escala, donde:
9 = ningún daño (no se observan síntomas),
6-8 = daño ligero (se observan síntomas pero no parecen ser deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas),
3-5 = daño moderado (intermedio), y
1-2 = severo (se observan síntomas deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas).

Si se observa un factor de estrés como insecto, enfermedad o factor abiótico después la observación en etapa de floración (R1-R3), pero antes de la observación en etapa de cosecha (R6), anotar la severidad de los síntomas del agente estresante por parcela empleando la misma escala y documentar la etapa de desarrollo promedio de las plantas.

4.10.4. Presencia de agentes estresantes en etapa de cosecha.

Cuando el 50% de las plantas alcancen la etapa de desarrollo R6, pero antes de la cosecha, se observará la severidad del daño ocasionado por insectos, enfermedades y factores abióticos. Se utilizará para ello la siguiente escala, donde:
9 = ningún daño (no se observan síntomas),
6-8 = daño ligero (se observan síntomas pero no parecen ser deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas),
3-5 = daño moderado (intermedio), y
1-2 = severo (se observan síntomas deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas).

4.10.5. Enfermedad “pudrición del tallo”.

Al cosechar se determinará la incidencia de la pudrición del tallo en 5 plantas representativas de la parcela. El tallo de cada planta se cortará en forma longitudinal y se examinará en busca de tejido de conducción fragmentado o decolorado. Se utilizará para ello la siguiente escala, donde:
9 = ningún daño (no se observan síntomas),
6-8 = daño ligero (se observan síntomas pero no parecen ser deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas),
3-5 = daño moderado (intermedio), y
1-2 = severo (se observan síntomas deletéreos al crecimiento y desarrollo de las plantas).

La severidad de la pudrición del tallo se tomará con base a planta en lugar de parcela. Aunque esta es una evaluación destructiva, el grano de las plantas analizadas deberá ser incluido en la cuantificación del rendimiento de la parcela.

4.10.6. Pudrición de la mazorca y granos.

Al momento de la cosecha se determinará la incidencia de pudrición de la mazorca y granos en 5 mazorcas (una por planta) representativas de la parcela. Se le quitan las hojas a la mazorca, de tal manera que se pueda cuantificar la cantidad de granos infectados, pero la mazorca deberá permanecer unida al tallo, de tal manera que sea incluida en la determinación del rendimiento de la parcela. El grano de las plantas analizadas deberá ser incluido en el rendimiento final de la parcela. Se utilizará una escala de 1-9 donde:
9 = ningún síntoma (no se observan síntomas),
6-8 = ligero (síntomas observados pero no parecen ser detrimentales para la calidad del grano y el rendimiento),
3-5 = moderado (intermedio), y
1-2 = severo (con síntomas observados y disminuyen la calidad del grano y el rendimiento).

Los valores asignados a la pudrición de la mazorca y los granos se tomarán en base a mazorca en lugar de parcela. El grano de las mazorcas analizadas deberá ser incluido en el rendimiento final de la parcela.

4.11. Análisis de datos.

El experimento propuesto será analizado empleando un programa de análisis estadístico para comparar cada material de prueba con su respectivo control. No se realizarán comparaciones estadísticas entre el material de prueba y las plantas utilizadas como referencia. El material de prueba será comparado con el material de control en cada localidad (por localidad) y en conjunto de todas las localidades Se reportarán las medias de cada material de prueba y control y los resultados de los análisis estadísticos. Los valores mínimo y máximo (el rango de referencia) y si es necesario un intervalo de tolerancia del 99% con una confianza del 95% será determinado a partir del material de referencia. No se realizarán comparaciones estadísticas entre los materiales de prueba y referencia.

Los datos reportados para cada material incluirán, aunque no serán limitativos a:

- Vigor de plántula
- Días al 50% de la liberación de polen
- Días al 50% de la aparición de los estigmas
- Stay Green
- Altura de mazorca
- Altura de planta
- Mazorcas caídas (número por parcela)
- Plantas acamadas del tallo (número por parcela)

- Plantas acamadas de la raíz (número por parcela)
- Conteo final de plantas establecidas (número por parcela)
- Peso de Grano (desgranar toda la parcela útil y pesarla en Kg.)
- Porcentaje de humedad del grano
- Rendimiento (ton/ha) corregido a 14% de humedad. El rendimiento en Kg./ha será calculado empleando la siguiente fórmula:

Rendimiento (ton/ha) = (((100-%Hum)/86) x Peso de Campo)/L x W x N x 10

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)

L = Longitud de la parcela en metros W = Distancia entre surcos en metros

N = Número de surcos por parcela

5. Registros a conservar.

5.1. Registros del sitio de estudio.

Además de la información descriptiva del sitio del estudio que se solicita en este protocolo, se deberá proporcionar la información general y actual por el investigador principal. Esta información incluirá lo siguiente:

a.) Nombre, dirección, ciudad, municipio, estado y teléfono del sitio.
b.) Mapa del sitio indicando el acceso al lugar del estudio desde caminos locales.
c.) Diagrama de las parcelas indicando las coordenadas de latitud y longitud de su ubicación (GPS).
d.) Altura sobre el nivel del mar.
e.) Historial del sitio de estudio de los dos años previos incluyendo plaguicidas empleados, caracterización del suelo y cualquier otro dato relevante al estudio.

5.2. Requerimientos para los datos.

El Director de estudio proporcionará un libro de campo que contendrá las hojas para el registro de datos y procedimientos requeridos por este protocolo. El cuaderno de campo y los datos crudos suplementarios deberán ser precisos, escritos con tinta indeleble azul o negra y registrados el mismo día de su obtención. Todas las páginas deberán quedar firmadas y fechadas. Todos los registros deberán ser fechados el día de su ingreso y firmados o con las iniciales del responsable al menos una vez en cada página. Si más de una persona registra datos en una página deberá quedar claro qué individuo registra qué dato. Cualquier copia de los datos crudos que substituya la original debe ser certificada con las palabras “copia exacta” y certificada con las iniciales fechadas de la persona que realiza

la copia. El investigador principal deberá firmar al final de todas las páginas del cuaderno verificando la claridad y que todos los registros sean completos.

Se recomienda incluir fotografías de las parcelas y apariencia morfológica de las plantas para complementar la documentación de los resultados del estudio. Las fotografías deberán estar certificadas mediante la incorporación del número de protocolo, código del sitio, iniciales fechadas y una breve descripción del objeto de la fotografía. Las fotografías electrónicas deberán estar numeradas y descritas en el cuaderno del estudio.

El cuaderno de trabajo original junto con toda la información complementaria y datos de apoyo será enviado al Responsable del Experimento dentro de las siguientes cuatro semanas de que finalizó el estudio.

5.3. Datos del clima.

Los datos del clima deberán ser proporcionados por la estación climatológica más cercana al experimento. Los datos requeridos por este protocolo son las temperaturas máxima y mínima del aire registradas diariamente y el informe diario sobre precipitaciones o riegos (si es que se utiliza riego) incluyendo las fechas y cantidad durante la duración del estudio. Además a los datos climáticos actuales, hay que proporcionar los promedios máximo y mínimo de la temperatura del aire y precipitación promedio mensual de los últimos años. El investigador principal deberá proveer cualquier otro dato climatológico o evento que pudiera influir en la conducción o integridad del estudio.

5.4. Reporte final.

El Director del estudio, o el designado para ello, preparará un reporte final que incluirá la descripción de los resultados de este estudio y un análisis de la calidad de todos los datos y procedimientos requeridos en el protocolo. El reporte final tendrá un formato de artículo científico e incluirá las siguientes secciones: Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Figuras y Tablas.

5.5. Retención de los registros.

El libro de campo y los registros suplementarios se almacenarán en un lugar seguro. El libro de campo será revisado por el investigador principal para verificar que se encuentre completo y lo enviará al Responsable del Experimento (o la persona a quien se ha delegado esta responsabilidad), en un plazo dentro de las cuatro semanas siguientes a que se ha finalizado el estudio. Los reportes finales se almacenarán en donde la autoridad lo considere conveniente.

6. Conducción del estudio.

6.1. Reportes.

Las preguntas e información sobre la conducción del estudio se dirigirán al Director del estudio.

6.2. Disposición del grano cosechado y del material vegetal remanente del OGM.

Una vez que sea recopilada la información del peso de grano de la parcela, la humedad del grano y el dato del peso específico, todo el grano GM cosechado y el material vegetativo remanente en las parcelas, caminos y surcos borderos deberán ser destruidos.

6.3. Monitoreo post-cosecha en búsqueda de plantas voluntarias.

Después de la destrucción del cultivo, se establecerá un programa de monitoreo en busca de plantas voluntarias durante los dos ciclos de cultivo siguientes.

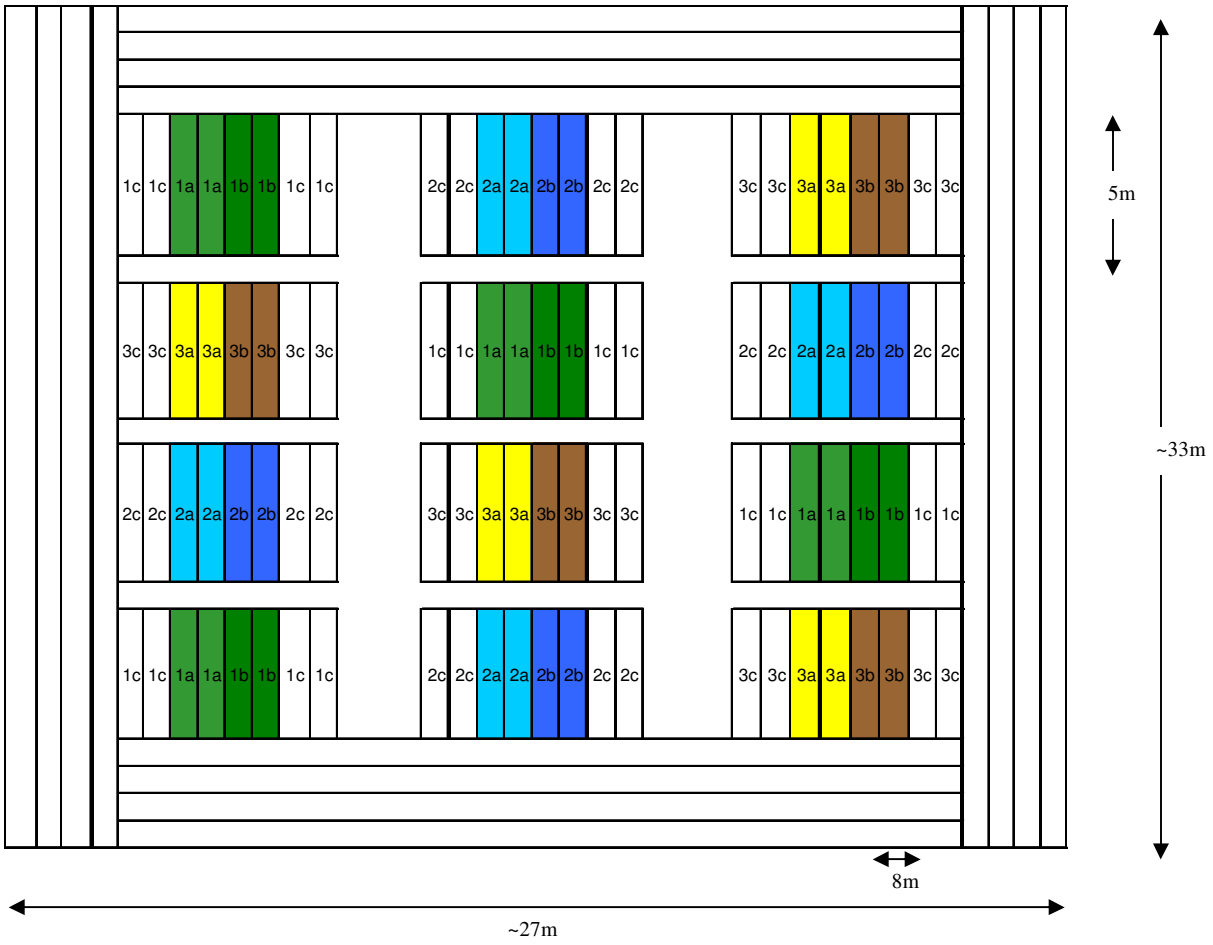
7. Referencias.

Keltgen Seed production booklet for 1995-1996. Page 72. Keltgen Seed, Box 207, Olivia, MN 56277.

Luna, SV, Figueroa, JM, Baltazar, MB, Gómez, RL, Townsend, R and JB Schoper, 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for pollen control. Crop Science 41: 1551-1557.

Croquis. PROTOCOLO # 1. Equivalencia agronómica funcional de híbridos de maíz genéticamente modificados (GM) en evaluaciones de campo en México.
DAS-01507-1
MON-00603-6
DAS-01507-1x MON-00603-6.

Isohíbrido (1a) + DAS-01507-1 (1b) + Híbrido de referencia (1c)
Isohíbrido (2a) + MON-00-603-6 (2b) + Híbrido de referencia (2c)
Isohíbrido (3a) + DAS-01507 x MON-00-603-6 (3b) + Híbrido de referencia (3c)



No habrá separación entre parcelas, solo entre repeticiones, en el croquis se ha puesto separación solo para efectos de visualización de parcelas.

ANEXO V. Protocolo 2: Efectividad biológica y beneficios potenciales del evento DAS- 01507-1 x MON-00603-6 en maíz para el estado de Sinaloa.

Protocolo número **2**

Título del Estudio: **Efectividad biológica y beneficios potenciales del evento DAS- 01507-1 x MON-00603-6 en maíz.**

Responsable: **PHI México SA de CV y Dow AgroSciences de México SA de CV**

Director del Estudio: **Fernando González Ceniceros**

Listado de los nombres e información de contacto de los investigadores responsables de la evaluación. (Los CV se encuentran en el anexo XIII)

Fernando González Ceniceros
Gerente de Investigación MD
PHI México, S.A. de C.V.
Km. 1.6 Poniente
San Miguel Cuyutlán C.P. 44660
Mpio. de Tlajomulco de Zuñiga, Jal.
Tel. (33) 3772-4290
Fax. (33) 3772-4293
fernando.gonzalez@pioneer.com

Maria Mateos
Asociado de Investigación Senior
PHI México, S.A. de C.V.
Km. 1.6 Poniente
San Miguel Cuyutlán C.P. 44660
Mpio. de Tlajomulco de Zuñiga, Jal.
Tel. (33) 3772-4290
maria.mateos@pioneer.com

Juan Carlos Martínez Nicolás
Asociado de Regulación Senior
PHI México, S.A. de C.V.
Carr. Guadalajara-Morelia, KM 21-8601-A
Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco.
CP. 45645. Tel. (33) 3679-7979
juan.martinez@pioneer.com

Gary D. Thompson
PG&B insect traits
Dow AgroSciences
Tel. 001 (317) 337-4579
gdthompson@dow.com

Leonel Avilés Morales
Investigación y Desarrollo
Dow AgroSciencesdow
Culiacán, Sin.
Tel. 667-751-2234 (Móvil)
LAVILESMORALES@dow.com

Regiones en el estado de Sinaloa en donde se solicita realizar la liberación experimental

1. Región de Los Mochis
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

2. Región del Valle de Culiacán
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

3. Región de La Angostura
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

4. Región de Navolato
Coordinado por los investigadores
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

1.0 Antecedentes y objetivo.

1.1 Antecedentes.

Si bien se ha discutido en muchos foros sobre los posibles riesgos del cultivo de maíz GM en México y se ha solicitado información de sus efectos en el medio ambiente, la diversidad biológica y la salud animal y humana, es necesario demostrar mediante un análisis imparcial y objetivo los beneficios que podría presentar el cultivo del maíz GM en nuestro país.

Por lo anterior, es fundamental proceder a la experimentación de campo en donde se cuantifiquen los beneficios de las variedades GM de maíz al medio ambiente, al agricultor y sobre la calidad de la cosecha.

La línea de maíz DAS- 01507-1 x MON-00603-6 ofrece al productor una herramienta simple, altamente efectiva y benigna desde el punto de vista ambiental, para controlar las plagas que lo afectan y para facilitar y mejorar el manejo del cultivo ya que es utilizado para la protección contra insectos lepidópteros y con tolerancia a los herbicidas glufosinato y glifosato

1.2 Objetivo.

a) Evaluar la respuesta de híbridos de maíz con germoplasma adaptado a las condiciones de campo en México que incorporan las características DAS-01507-1 x MON-00603-6 frente a la infestación de plagas y maleza.

b) Comparar los métodos tradicionales para el control de las plagas y maleza con un programa de control para la línea de eventos acumulados DAS-01507-1 x MON-00603-6.

c) Evaluar la relación costo-beneficio de la tecnología línea de eventos acumulados DAS-01507-1 x MON-00603-6 en el control de las plagas y maleza bajo las condiciones normales de producción de maíz en México.

2.0 Cumplimiento de los requisitos Regulatorios y de Control de Calidad.

2.1 Cumplimiento con los requisitos Regulatorios.

Los estudios se llevarán a cabo bajo la supervisión de personal de las empresas y los investigadores mencionados. La siembra de los experimentos se realizará una vez que se cuente con el permiso de liberación al ambiente correspondiente así como el permiso de importación por parte de las autoridades competentes para todos y cada uno de los maíces GM propuestos.

2.2 Requerimientos de Control de Calidad.

Se describen las expectativas mínimas de calidad para la realización del estudio y su documentación dentro de este protocolo.

3.0 Duración del estudio.

3.1 Fecha de inicio propuesta: Ver cuadro N° 2.

4.1 Diseño del estudio.

4.0 Material de prueba.

Un híbrido de maíz con la línea de eventos acumulados DAS- 01507-1 x MON-00603-6 adaptado a las condiciones de la región.
Un híbrido de maíz con la línea DAS- 01507-1 adaptado a las condiciones de la región.
Un híbrido de maíz con la línea MON-00603-6 adaptado a las condiciones de la región.

4.2 Controles.

El híbrido convencional a utilizar como control de la evaluación, fue desarrollado mediante mejoramiento tradicional, el cual posee un fondo genético común al maíz con el evento DAS- 01507-1 y MON-00603-6.

4.2.1 Referencias.

Los materiales de referencia son híbridos comerciales que no expresan la característica de cada evento específico incluidos en este estudio. En este estudio, se incluirán plantas GM, el control isogénico y un híbrido comercial con diferente fondo genético al maíz GM y a su línea isohíbrida. Las referencias se incluyen para proporcionar información sobre la variabilidad natural que es común a los materiales de maíz híbrido.

4.3 Justificación de los sitios seleccionados para el estudio.

El experimento se localizará en los Campos de agricultores cooperantes referidos en las solicitudes de liberación al medio ambiente que amparan a este Protocolo de Investigación. Estas localidades son representativas de las áreas de producción agrícola en México. El manejo agronómico será de acuerdo a las guías técnicas para el cultivo del maíz desarrolladas por INIFAP.

4.4 Descripción del diseño experimental.

Diseño de Bloques completos al azar con parcelas apareadas y 4 repeticiones.

Dimensiones de parcela:

- Distancia entre surcos: 80 cm
- Longitud de surcos: 5 m
- Número de surcos/parcela: 8 (2 de híbrido de referencia a cada lado de las parcelas apareadas + 2 de híbrido convencional + 2 de híbrido GM. La disposición en campo no utilizará separación entre parcelas; las calles separarán las repeticiones.
- Superficie de parcela experimental total: 24 m^2; superficie útil: 16 m^2.
- Superficie total del experimento (incluyendo calles entre repeticiones y bordos):1,904 m^2.
- Superficie útil total del maíz GM: 448 m^2.
- Tipo de siembra: manual; se realizará aclareo de las parcelas para dejar 30 plantas/surco.

Información sobre parcelas.

El investigador principal de cada estudio establecerá las plantas de los materiales de prueba y controles bajo un diseño de bloques completos al azar con parcelas apareadas y cuatro repeticiones.

La aleatorización de las parcelas (números de las parcelas y sus correspondientes números de materiales) para cada sitio de estudio será predeterminado y proporcionado en la sección correspondiente del libro de campo. (La aleatorización se encuentra en el croquis al final de este protocolo)

Cada repetición consistirá de 10 parcelas (Las tres primeras con isohíbridos convencionales y las restantes 7 en parcelas apareadas) distribuidas completamente al azar. Cada parcela consistirá de 8 surcos de 5 m de largo con un espacio entre surcos de 0.8 m. Para evitar efectos por competencia no se incluirá espacio entre parcelas. El ensayo será rodeado con un bordo de maíz convencional que consistirá de 4 surcos a cada lado del experimento y un rango adicional al inicio y al final del experimento. El bordo será sembrado siguiendo la misma metodología de establecimiento del experimento y misma fecha.

Cuadro 1. Cantidad de semilla de maíz DAS- 01507-1 x MON-00603-6, DAS- 01507-1 y MON-00603-6a utilizar por localidad.

Tratamiento[1]	**Surcos**	**Metros de siembra/ parcela** [2]	**Semillas/ parcela** [3]	**Semillas/ ensayo** [4]	**Cantidad en kg** [5]
DAS- 01507-1 x MON-00603-6	40	10	90	1800	0.6
DAS- 01507-1	8	10	90	360	0.12
MON-00603-6	8	10	90	360	0.12

[1] 5 tratamientos del DAS-01507-1 X MON-00603-6, 1 tratamiento de DAS-01507-1 y 1 tratamiento de MON-00603-6, por repetición.
[2] 2 surcos de 5 m cada uno = 10 m
[3] 9 semillas/m, 90 semillas/00 m
[4] DAS-01507-1 x MON-00603-6: 90 semillas/parcela x 5 parcelas x 4 repeticiones =1800 semillas/ensayo
DAS-01507-1: 90 semillas/parcela x 1 parcela x 4 repeticiones = 360 semillas/ensayo
MON-00603-6: 90 semillas/parcela x 1 parcela x 4 repeticiones = 360 semillas/ensayo
[5] DAS-01507-1 x MON-00603-6: Cantidad en kg = (Semilla por ensayo)/3000 =0.6 kg (3000 semillas = 1 kg)
DAS-01507-1: Cantidad en kg = (Semilla por ensayo)/3000 =0.12 kg (3000 semillas = 1 kg)
MON-00603-6: Cantidad en kg = (Semilla por ensayo)/3000 =0.12 kg (3000 semillas = 1 kg)

Se anexa un croquis representativo del ensayo.

Cuadro 2. Localidad, fecha de siembra y cantidad total de semilla requerida para la evaluación de la efectividad biológica y beneficios potenciales del maíz DAS- 01507-1 x MON-00603-6, DAS- 01507-1 y MON-00603-6 en diferentes localidades de Sinaloa.

Sitio propuesto para el programa	Fecha de importación de la semilla (2009)	Fecha límite de siembra (2009)	Superficie		Total de semilla de maíz GM (kg) *		
			Superficie total del experimento (m^2) (1)	Superficie maíz GM (m^2) (2)	Stack	Das	Mon
Los Mochis	Octubre	Noviembre	2178 m^2	224 m^2	0.6	0.12	0.12
Valle de Culiacán	Octubre	Noviembre	2178 m^2	224 m^2	0.6	0.12	0.12
La Angostura	Octubre	Noviembre	2178 m^2	224 m^2	0.6	0.12	0.12
Navolato	Octubre	Noviembre	2178 m^2	224 m^2	0.6	0.12	0.12
Total			**8712**	**896**	**2.4**	**0.48**	**0.48**

(1) Incluye parcelas experimentales con todos los materiales a evaluar, calles entre repeticiones y bordos.
(2) Superficie DAS- 01507-1 x MON-00603-6, 2 surcos de 5 m de largo con una separación entre surcos de 0.8 m, 20 parcelas (5 parcelas por repetición y 4 repeticiones) mas una parcela por cada evento individual.
*Stack: DAS- 01507-1 x MON-00603-6
Das: DAS- 01507-1
Mon: MON-00603-6

Nota: Se tendrá cuidado especial cuando el maíz GM corresponda a uno tolerante a herbicida y se realice la aspersión a fin de eliminar la posibilidad de que la deriva llegue a las plantas convencionales. Se emplearán plásticos para evitar que el herbicida tenga contacto con las plantas convencionales.

Distancia de Aislamiento.

Se tendrá una distancia de aislamiento de cualquier otra parcela donde se siembre maíz de 300 metros. No se considera el desespigue de los materiales de maíz GM.

Preparación del área de estudio (previo a la siembra).

El área de estudio será preparada de acuerdo a lo requerido en la localidad (por ejemplo, rastras, irrigación, fertilizantes y plaguicidas) para la obtención de un cultivo agronómicamente bien manejado.

Fecha de Siembra y condiciones ambientales.

La siembra se realizará dentro de las fechas normales de cada localidad. Los datos ambientales a ser recabados durante la siembra serán: temperatura del aire, temperatura del suelo y humedad del suelo, para lo cual se tomará una muestra representativa del lugar, en un envase con cierre hermético para evitar la pérdida de agua y se llevará a un laboratorio de suelos.

Tratamientos:

1) Híbrido convencional, control de maleza convencional, control de insectos convencional.
2) Híbrido convencional, control de maleza convencional, sin control de insectos.
3) Híbrido convencional, 1 kg de glifosato en etapa V2-V4, sin control de insectos.
4) Híbrido DAS- 01507-1, control de maleza convencional, sin control de insectos.
5) Híbrido MON-00603-6, 1 kg de glifosato en etapa V2-V4 + control de insectos.
6) Híbrido DAS- 01507-1 x MON-00603-6, 1 kg glifosato en etapa V2-V4, con control de insectos.
7) Híbrido DAS- 01507-1 x MON-00603-6, 1 kg glifosato en etapa V2-V4, sin control de insectos.
8) Híbrido DAS- 01507-1 x MON-00603-6, 1 kg glifosato en etapa V2-V4 + 1 kg de glifosato en etapa V6-V8, control de insectos.
9) Híbrido DAS- 01507-1 x MON-00603-6, 1 kg glifosato en etapa V2-V4 + 1 kg de glifosato en etapa V6-V8, sin control de insectos.
10) Híbrido DAS- 01507-1 x MON-00603-6, control de maleza convencional, control de insectos convencional.

* Control convencional de insectos plagas = aplicación de insecticida solamente cuando las infestaciones se encuentren en nivel 4 de la escala de daño descrita por Davis y Williams, correspondiente a un nivel crítico alcanzado cuando el 15% de las plantas se encuentren infestadas por cogollero en estadio larval 4 o superior; por debajo de dicho estadio se deberá realizar un nuevo muestreo para decidir sobre la aplicación de insecticida.
** Control convencional de malezas = Aplicación de herbicidas diferentes a glifosato

Variables de estudio (datos a obtener).

A. Respecto del carácter de tolerancia a herbicida:

- % clorosis (10 días después de aplicado el tratamiento [DDAT])
- % malformación (10 DDAT)
- Altura de la planta (10 DDAT)
- % reducción visual de crecimiento (10 y 30 DDAT)
- Calificación de fertilidad (% llenado de mazorca) (1-5; 1 = totalmente fértil, 5 = totalmente estéril)
- Malezas presentes en el ensayo (0 DDAT)
- % control de maleza (15 DDAT)
- altura de planta y mazorca (a madurez fisiológica)
- acame (al final)
- Rendimiento ajustado al 14% de humedad

Toma de muestras de los tratamientos del 5 al 10 para cuantificar niveles de Glifosato en forraje, elote fresco y grano. Para forraje se tomará una planta por repetición antes de antesis y se homogenizará para obtener una submuestra de 0.5 kg a remitir para

análisis. Para elote se tomará uno por cada repetición en estado lechoso masoso. Para grano se tomará 0.5 kg una vez determinado el rendimiento. Las muestras se enviarán con hielo seco, incluyendo la de grano, al laboratorio.

B. Respecto del carácter de resistencia a insectos plaga:

- % de plantas con daño foliar bajo infestación natural
- Calificación del daño foliar: escala de 1 a 9; 1 = sin daño al follaje, 9 = daño severo (Escala de Davis).
- % de plantas con daño foliar

- A cosecha:
  % tallos dañados por barrenador
  Extensión de las galerías
  Rendimiento ajustado al 14% de humedad

- Relación costo-beneficio por uso de la tecnología

Disposición del grano cosechado y del material vegetal remanente.

Una vez que sea recopilada la información del peso de grano, la humedad del grano y el dato del peso específico de la parcela GM, todo el grano cosechado y el material vegetativo remanente serán destruidos.

Monitoreo post-cosecha en búsqueda de plantas voluntarias.

Después de la destrucción del cultivo, se establecerá un programa de monitoreo en busca de plantas voluntarias durante los dos ciclos de cultivo siguientes.

Análisis de datos.

El experimento propuesto, será analizado empleando un programa de análisis estadístico para comparar cada material de prueba con su respectivo control. El material de prueba será comparado con el material de control en cada localidad (por localidad) y en conjunto de todas las localidades Se reportarán las medias de cada material de prueba y control y los resultados de los análisis estadísticos.

5.0 Registros a conservar.

5.1 Registros del sitio de estudio.

Además de la información descriptiva del sitio del estudio solicitada en este protocolo se deberá proporcionar información general y actual por el investigador principal. Esta información incluirá lo siguiente:

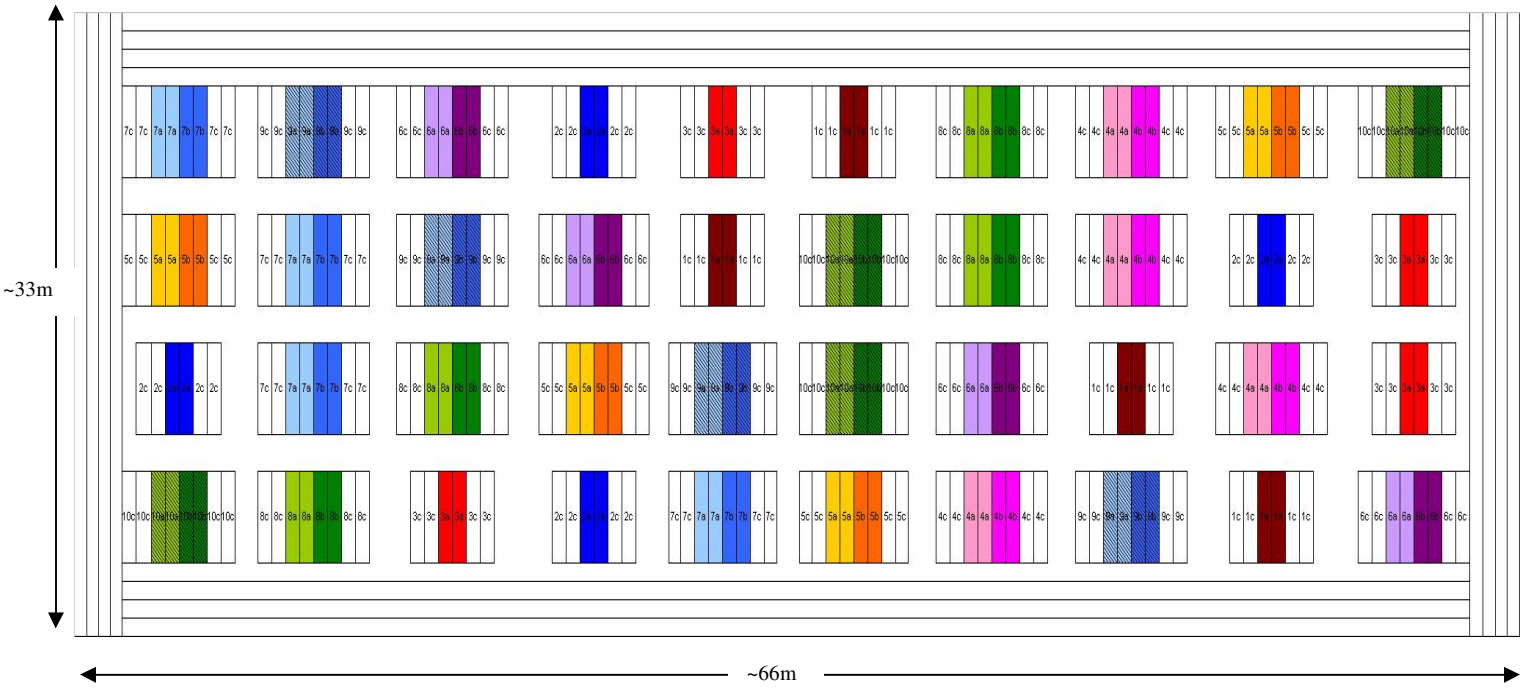
e.) Nombre, dirección, ciudad, municipio, estado y teléfono del sitio.
f.) Mapa del sitio indicando el acceso al lugar del estudio desde caminos locales.
g.) Diagrama de las parcelas indicando las coordenadas de latitud y longitud de su ubicación (GPS).
h.) Altura sobre el Nivel del Mar.
e.) Historial del sitio de estudio de los cinco años previos incluyendo cultivos sembrados, plaguicidas empleados, caracterización del suelo y cualquier otro dato relevante al estudio. Incluir los datos actuales e históricos del clima.

Reporte Final.

El Director de estudio o el designado para ello, preparará un reporte final que incluirá la descripción de los resultados de este estudio y un análisis de la calidad de todos los datos y procedimientos requeridos en el protocolo. El reporte final tendrá un formato de artículo científico e incluirá las siguientes secciones: Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Figuras y Tablas.

Croquis. PROTOCOLO # 2 Efectividad biológica y beneficios potenciales del evento DAS- 01507-1 x MON-00603-6.

1a. Isohíbrido convencional, control de maleza convencional, control de insectos convencional
2a. Isohíbrido convencional, control de maleza convencional, sin control de insectos
3a. Isohíbrido convencional, 1kg de glifosato en etapa V2-V4, sin control de insectos
4a. Isohíbrido convencional
4b. Híbrido DAS-01507-1, control de maleza convencional, sin control de insectos
5a. Isohíbrido convencional
5b. Híbrido MON-00603-6, 1kg Glifosato en etapa V2-V4 + control de insectos
6a. Isohíbrido convencional
6b. Híbrido DAS-01507-1 x MON-00603-6, 1kg Glifosato V2-V4 + control de insectos
7a. Isohíbrido convencional
7b. Híbrido DAS-01507-1 x MON-00603-6, 1kg Glifosato en etapa V2-V4, sin control de insectos
8a. Isohíbrido convencional
8b. Híbrido DAS-01507 x MON-00606-6, 1kg Glifosato en etapa V2-V4 + 1kg Glifosato V6-V8 + Control de insectos
9a. Isohíbrido convencional
9b. Híbrido DAS-01507-1 x MON-00603-6, 1 kg Glifosato V2-V4 + 1kg Glifosato V6-V8, sin control de insectos
10a. Isohíbrido convencional
10b. Híbrido DAS-01507-1 x MON-00603-6, control de maleza convencional + control de insectos convencional



No habrá separación entre parcelas, solo entre repeticiones, en el croquis se ha puesto separación solo para efectos de visualización de parcelas.

ANEXO VI. Protocolo 3. Caracterización de Insectos No Blanco en evaluaciones de Maíz GM de Campo en el estado de Sinaloa. (Se incluyen dos eventos, pues la metodología se aplicará simultáneamente en campo para los dos).

Protocolo Número: **3**

Título del Estudio: **Caracterización de Insectos No Blanco en evaluaciones de Maíz GM de Campo en el estado de Sinaloa.**

Responsable: **PHI México SA de CV y Dow AgroSciences de México SA de CV**

Director del Estudio: **Fernando González Ceniceros**

Listado de los nombres e información de contacto de los investigadores responsables de la evaluación. (Los CV se encuentran en el anexo XIII)

Fernando González Ceniceros
Gerente de Investigación MD
PHI México, S.A. de C.V.
Km. 1.6 Poniente
San Miguel Cuyutlán C.P. 44660
Mpio. de Tlajomulco de Zuñiga, Jal.
Tel. (33) 3772-4290
Fax. (33) 3772-4293
fernando.gonzalez@pioneer.com

Maria Mateos Hernández
Asociado de Investigación Senior
PHI México, S.A. de C.V.
Km. 1.6 Poniente
San Miguel Cuyutlán C.P. 44660
Mpio. de Tlajomulco de Zuñiga, Jal.
Tel. (33) 3772-4290
maria.mateos@pioneer.com

Juan Carlos Martínez Nicolás
Asociado Senior de Regulación
PHI México, S.A. de C.V.
Carr. Guadalajara-Morelia, KM 21-8601-A
Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco.
CP. 45645. Tel. (33) 3679-7979
juan.martinez@pioneer.com

Gary D. Thompson
PG&B insect traits
Dow AgroSciences
Tel. 001 (317) 337-4579
gdthompson@dow.com

Leonel Avilés Morales
Investigación y Desarrollo
Dow AgroSciencesdow
Culiacán, Sin.
Tel. 667-751-2234 (Móvil)
LAVILESMORALES@dow.com

Regiones en el estado de Sinaloa en donde se solicita realizar la liberación experimental

1. Región de Los Mochis
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

2. Región del Valle de Culiacán
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

3. Región de La Angostura
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

4. Región de Navolato
Coordinado por los investigadores:
M.C. Mayra C. Avilés y M.C. J. de Jesús Wong Pérez

1.0 Antecedentes y Objetivo.

1.1 Antecedentes.

La integración de cultivos GM en las prácticas agrícolas implica tener el conocimiento de las relaciones ecológicas entre los cultivos, sus parientes silvestres, sus predadores y miembros de las cadenas tróficas con los que interactúan a fin de que su utilización no genere un impacto negativo en el ambiente. Por consiguiente, es importante el determinar el efecto del la proteína *Bt* a plagas no-blanco. Como primer paso, es necesario el obtener información de las plagas presentes en maíces GM.

1.2 Objetivo.

Identificar las poblaciones de insectos presentes a lo largo del ciclo de cultivo del maíz GM y su control convencional.

2.0 Cumplimiento de los requisitos regulatorios y de control de calidad.

2.1 Cumplimiento con los requisitos regulatorios.

Los estudios se llevarán a cabo bajo la supervisión de personal de las empresas y los investigadores mencionados La siembra de los experimentos se realizará una vez que se cuente con el permiso de liberación al ambiente correspondiente por parte de las

autoridades competentes. Los materiales a utilizar son Variedades de Polinización Abierta (VPA's) convencionales y GM con los evento DAS-01507 y DAS-01507-1x MON-00603-6.

2.2 Requerimientos de control de calidad.

Se describen las expectativas mínimas de calidad para la realización del estudio y su documentación dentro de estos protocolos.

3.0 Duración del estudio.

3.1 Fecha de inicio propuesta: (Ver cuadro 2)
3.2 Fecha de término propuesta: (Ver cuadro 2)

4.0 Diseño del estudio.

4.1. Muestreo de Insectos en el Follaje de maíz.

Los datos sobre la presencia de insectos serán obtenidos a partir de los muestreos realizados en parcelas que consistirán de 20 surcos de 5 m de largo y separación entre surcos de 0.8 m para cada material (maíz GM y control). El ensayo será rodeado con un bordo de maíz convencional que consistirá de 4 surcos. El bordo será sembrado siguiendo la misma metodología de establecimiento del experimento y misma fecha. Ejemplo de los insectos a muestrear se incluyen en el cuadro 3.

Cuadro 1. Cantidad de semilla de maíz GM a utilizar en cada localidad:

Tratamiento	Surcos	Metros de siembra/ parcela (1)	Semillas / parcela (2)	Cantidad en kg (3)
DAS-01507-1	20	100	900	0.3
DAS-01507-1 x MON-00603-06	20	100	900	0.3

(1) 20 surcos de 5 m cada uno = 100 m
(2) 9 semillas/m, 900 semillas/100 m
(3) Cantidad en kg (kg) = (Semilla por parcela)/3000 = 0.3 kg (3000 semillas = 1 kg)

Se anexa un croquis representativo del ensayo y se indica el detalle de cada parcela.

Cuadro 2. Localidades, fechas de siembra y cantidad total de semilla requerida para la evaluación de la Efectividad biológica y beneficios potenciales del maíz GM en el estado de Sinaloa.

Sitio propuesto para el programa	Fecha de importación de la semilla (2009)	Fecha límite de siembra (2009)	Superficie		Total de semilla de maíz GM (kg)	
			Superficie total del experimento (m^2) (1)	Superficie maíz GM (m^2) (2)	DAS-01507-01	DAS-01507-1 x MON-00603-06
Los Mochis	Octubre	Noviembre	621 m^2.	160 m^2.	0.3	0.3
Valle de Culiacán	Octubre	Noviembre	621 m^2.	160 m^2.	0.3	0.3
La Angostura	Octubre	Noviembre	621 m^2.	160 m^2.	0.3	0.3
Navolato	Octubre	Noviembre	621 m^2.	160 m^2.	0.3	0.3
Total			**2484**	**640**	**1.2**	**1.2**

(1) Incluye la parcela con el material a evaluar GM e isohíbrido así como bordos.
(2) Superficie maíz GM considerando 20 surcos de 5 m de largo por parcela y los dos eventos, con una separación entre surcos de 0.8 m.

4.2. Distancia de Aislamiento.

Se tendrá una distancia de **300 metros** de aislamiento de cualquier otra parcela donde se siembre maíz ajeno a las parcelas de experimentación. No se considera el desespigue del maíz GM.

4.2.1. Muestreo con Sabanas.

El muestreo con sábanas consiste en un paño blanco que mide aproximadamente de largo 1 m y de ancho el espaciamiento entre hileras. Al sacudir vigorosamente las plantas que se encuentran al lado del paño, los artrópodos caen en el paño. Luego se procederá a la identificación y cuenteo de estos.

Los insectos pueden ser recogidos para ser identificados en el laboratorio usando una sábana modificada. Para construir la sábana modificada, corte y remueva el centro de una tapadera de plástico de un frasco de colección y péguela al perímetro de un agujero (de dimensiones más pequeñas que la tapadera) localizado en el centro de la sábana. Antes de proceder a la colección de insectos, atornille un frasco a la tapa que fue pegada al centro de la sábana. Las muestras son tomadas extendiendo el paño paralelo a cada hilera y extendiéndolo debajo de las plantas, tomando cuidado para no disturbar las plantas. Cuando se arrodille entre las hileras, extienda cada brazo hacia adelante paralelo a la hilera y doble las plantas sobre el paño. Sacuda las plantas

vigorosamente para desalojar los insectos. Recoja los insectos desalojados moviéndolos hacia el agujero del frasco usando un cepillo de pintura suave.

Después de que todos los organismos sean introducidos en el frasco, desenrósquelo y asegurándose de que no se escape ninguno. Vierta una solución de etanol de aproximadamente 70% en el frasco hasta cubrir los insectos y cualquier material de planta que se encuentre en el frasco. Coloque una tapadera en el frasco que contiene la muestra de artrópodos. Ponga una etiqueta en cada frasco con información descriptiva como el nombre de la localidad donde se realizó el muestreo, etapa de desarrollo de la planta, y fecha de la colección de la muestra. Almacene los frascos a temperatura ambiente (aproximadamente 25 ºC) hasta que se realice la identificación de las muestras de insectos.

Todos los insectos recogidos en los frascos serán contados e identificados como mínimo al nivel de familia. Los organismos comunes de los que se sabe a qué género o especie pertenecen, serán anotados con el nivel taxonómico más alto conocido. La identificación y la enumeración se realizarán con un microscopio de disección.

4.2.2. Trampas Amarillas.

Las trampas amarillas serán utilizadas para determinar la abundancia relativa de insectos de vuelo que no sean capturados en las muestras de sábanas. Ejemplos de insectos que se encuentran en bajos números en muestreos con sábanas son polinizadores, avispas parasíticas, mariquitas y crisópidos.

Coloque las trampas amarillas al nivel del follaje de las plantas y ajústelos a medida que las plantas vayan creciendo. Cada cartón se monta en una estaca de madera (o similar) colocada entre las hileras en 4 o 6 sitios en el campo de maíz. Coloque y recoja las trampas amarillas dos veces por semana. Ponga una etiqueta en cada trampa con información descriptiva como el nombre de la localidad donde se realizó el muestreo, etapa de desarrollo de la planta, y fecha de la colección de la muestra. Almacene las trampas en el refrigerador (4-9ºC) hasta que se proceda a la identificación y enumeración de los artrópodos.

En este método de muestreo, solamente organismos polinizadores, avispas parasíticas, mariquitas y crisópidos serán contados e identificados como mínimo a nivel de familia. Los organismos comunes de los que se sabe a qué género o especie pertenecen, serán anotados con el nivel taxonómico más alto conocido. La identificación y la enumeración se pueden realizar a simple vista, con un microscopio de disección, o con una lupa entomológica.

Datos adicionales de observaciones visuales serán anotados en cada muestreo. El investigador documentará polinizadores, u otros organismos observados en el campo que no se encuentran presente o se encuentran en números bajos en las trampas amarillas o en los muestreos con sábanas.

5.0. Resumen de Datos.

Se preparará un informe final que incluirá descripciones del campo y de las prácticas de mantenimiento, descripciones de los métodos usados, y un sumario de los datos de artrópodos. Los datos de artrópodos serán resumidos por separado para cada localidad, muestreo, y método de muestreo; e incluirá la identificación taxonómica, el grupo funcional, y la abundancia de cada organismo (véase el ejemplo: tabla 1). Ejemplos de grupos funcionales son polinizadores, depredadores, parásitos, o herbívoros.

Registros a Conservar.

5.1 Registros del sitio de estudio.

Además de la información descriptiva del sitio del estudio solicitada en este protocolo se deberá proporcionar información general y actual por el investigador principal. Esta información incluirá lo siguiente:

i.) Nombre, dirección, ciudad, municipio, estado y teléfono del sitio
j.) Mapa del sitio indicando el acceso al lugar del estudio desde caminos locales
k.) Diagrama de las parcelas indicando las coordenadas de latitud y longitud de su ubicación (GPS)
l.) Altura sobre el Nivel del Mar
e.) Historial del sitio de estudio de los cinco años previos incluyendo, cultivos anteriores, plaguicidas empleados, caracterización del suelo y cualquier otro dato relevante al estudio. Incluir los datos actuales e históricos del clima.

5.2. Disposición del grano cosechado y del material vegetal remanente.

Describir la disposición del grano y materiales vegetales. Por ejemplo: dentro de una semana de haber colectado el peso de la parcela, la humedad del grano y el dato del peso de prueba, todo el grano cosechado y el material vegetal remanente en las parcelas, caminos y surcos borde deberá ser deshabilitado de acuerdo a los métodos descritos.

5.3. Reporte Final.

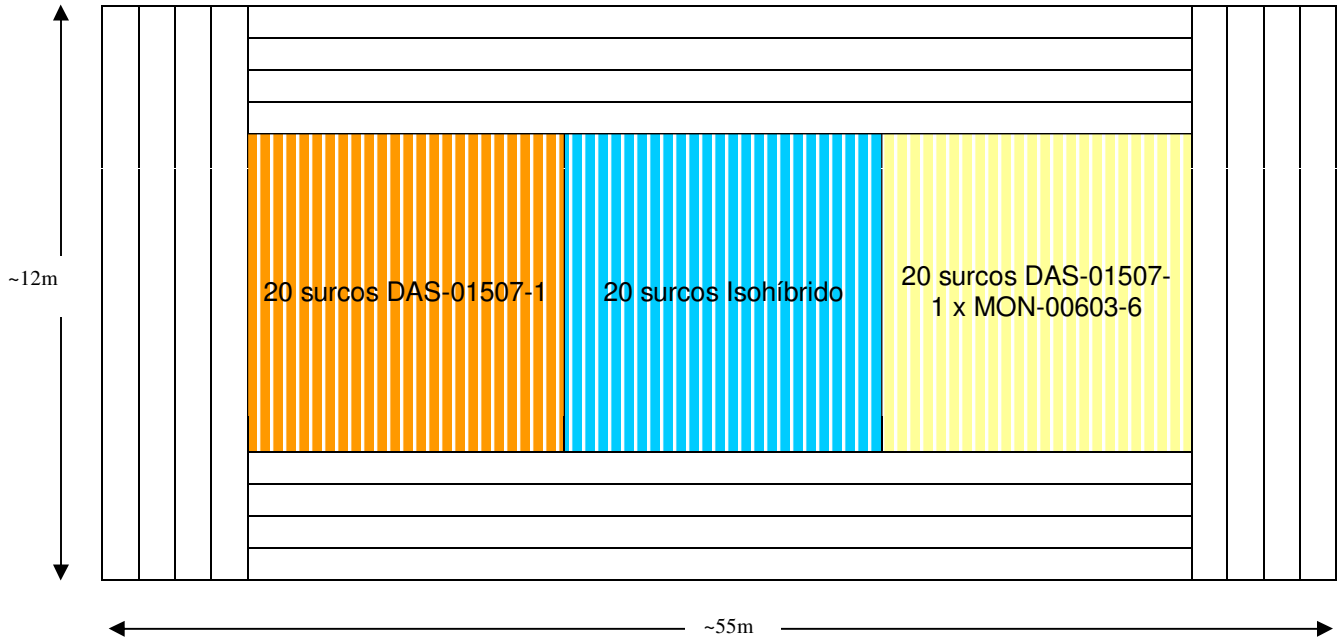
El Director de estudio o el designado para ello, prepararán un reporte final que incluirá la descripción de los resultados del estudio sobre la caracterización de organismos no blanco
El reporte Final tendrá un formato de artículo científico e incluirá las siguientes secciones:

Introducción
Materiales y Métodos
Resultados y Discusión
Conclusiones
Figuras y
Tablas

5.4. Monitoreo Post-Cosecha en búsqueda de plantas Voluntarias.

Después de la destrucción del cultivo, se establecerá un programa de monitoreo en busca de plantas voluntarias en el siguiente ciclo.

Croquis. Protocolo # 3. Caracterización de Insectos No Blanco en evaluaciones de Maíz GM de Campo en el estado de Sinaloa. (Se incluyen dos eventos, pues la metodología se aplicará simultáneamente en campo para los dos).



No habrá espacio entre parcelas, la separación de los eventos se hará a través del isohíbrido convencional.

Ejemplo: Cuadro 3: Localidad 1, Organismos colectados con muestreos de sábanas.

				Abundancia		
Orden	**Familia**	**Genero-Especie**	**Grupo Funcional**	**6 nodo**	**Pico de Florecimiento**	**Pico de Desarrollo de Cápsulas**
Coleóptero	Coccinellidae	*Hippodamia variegata*	Predador			
		Coccinella septempunctata	Predador			
		Otros	Predador			
	Anthicidae		Carroñero/ Predador			
	Curculionidae	*Anthonomus grandis*	herbívoro			
Homóptera	Phididae	*Aphis gossypii*	herbívoro			
Lepidóptero	Noctuidae	*Trichopusia ni*	herbívoro			
	Gelechiidae	*Pectinophora gossypiella*	herbívoro			

ANEXO VIII. Método de detección para el evento DAS-01507-1 x MON-00603-06

EUROPEAN COMMISSION
DIRECTORATE GENERAL JRC
JOINT RESEARCH CENTRE
INSTITUTE FOR HEALTH AND CONSUMER PROTECTION
COMMUNITY REFERENCE LABORATORY FOR GM FOOD AND FEED

Event-specific method for the quantitation of maize 1507xNK603 using real-time PCR

Validation Report

Biotechnology & GMOs Unit
Institute for Health and Consumer Protection
DG Joint Research Centre

28 November 2005

Executive Summary

The JRC as Community Reference Laboratory (CRL) for the GM Food and Feed (see Regulation EC 1829/2003), has carried out an in-house verification study to assess the performance of two quantitative, event-specific methods, previously validated on the parental lines, to detect and quantify the TC1507 and the NK603 maize transformation events on flour from the "stacked" maize line combining the two thereof traits (unique identifiers DAS-01507-1 and MON-00603-6). The study was conducted according to internationally accepted guidelines.

Pioneer Hi-Bred International provided the method-specific samples (semi-ground seeds 1507xNK603 and null), whereas the JRC prepared the verification samples (calibration samples and blind samples at unknown GM percentage).

The results of the in-house verification study were evaluated with reference to ENGL method performance requirements (http://gmo-crl.jrc.it/doc/Method%20requirements.pdf) and the validation results for the two parental lines (http://gmo-crl.jrc.it/statusofdoss.htm).

The results of in-house verification are publicly available under http://gmo-crl.jrc.it/.

Contents

1. INTRODUCTION **3**

2. MATERIALS **4**

3. EXPERIMENTAL DESIGN **5**

4. METHOD **5**

4.1 DESCRIPTION OF THE OPERATIONAL STEPS 5

5. DEVIATIONS REPORTED **6**

6. SUMMARY OF RESULTS **6**

6.1. PCR EFFICIENCY AND LINEARITY 6
6.2. METHOD PERFORMANCE REQUIREMENTS 8
6.3. COMPARISON OF METHOD PERFORMANCE BETWEEN STACK AND PARENTAL LINE 9

7. CONCLUSIONS **10**

8. REFERENCES **11**

Document Approval		
Name / Function	**Date**	**Signature**
Marco Mazzara *Sector Head*	**28/11/2005**	**Signed**
Stephane Cordeil *Quality Manager*	**28/11/2005**	**Signed**
Guy Van den Eede *B&GMOs Unit Head*	**28/11/2005**	**Signed**

Address of contact laboratory:
European Commission, Joint Research Centre
Institute for Health and Consumer Protection (IHCP)
Biotechnology and GMOs Unit – Community Reference Laboratory
Via Fermi 1, 21020 Ispra (VA) - Italy

1. Introduction

The Joint Research Centre (JRC, Biotechnology and GMOs Unit of the Institute of Health and Consumer Protection) as Community Reference Laboratory for the GM Food and Feed (see Regulation EC 1829/2003) carried out an in-house verification of the event-specific methods for the detection and quantification of 1507 and NK603 in the stacked maize line combining the two traits derived through traditional breeding techniques between progeny of 1507 and NK603 maize. The single methods had been previously validated further to collaborative trial on the single parental lines (http://gmo-crl.jrc.it/statusofdoss.htm).

Upon reception of methods, samples and related data, the JRC carried out the scientific evaluation of documentation and the in-house testing of the methods, according to the requirements of Regulation (EC) 641/2004 and following its operational procedures.
The CRL method verification was carried out in February-March 2005.

Genomic DNA from wild type maize and from the maize line 1507xNK603 was extracted following the methods enclosed in the validated protocols for events 1507 and NK603 respectively (http://gmo-crl.jrc.it/).

The operational procedure of the in-house verification comprised the following module:

- ✓ Quantitative real-time PCR (Polymerase Chain Reaction). The methodology consists of two event-specific real-time quantitative TaqMan® PCR procedures for the determination of the relative content of event 1507 and NK603 DNA to total maize DNA from the stacked line. The 1507 event was quantified in reference to a maize endogenous system obtained from a *hmg* gene (high mobility group). The NK603 event was quantified in reference to the maize endogenous system from gene *Adh1* (*Alcohol dehydrogenase-1*). The procedure is a simplex system.

The study was carried out in accordance with the following internationally accepted guidelines:

- ✓ ISO 5725 (1994).
- ✓ The IUPAC "Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies" (Horwitz, 1995).

2. Materials

For the validation of the quantitative event-specific method, the 1507xNK603 genomic DNA was extracted from maize seeds, lot PIV1PNE11040-00, while the control DNA was extracted from a non-GM maize line (Lot Number PIP20LBN).
Samples containing mixtures of 0% and 100% 1507xNK603 maize genomic DNA at different GMO concentrations were prepared by the JRC.

The protocols (reagents, concentrations, primer/probe sequences, amplification profile) used in the in-house verification are those already published as validated methods for the 1507 and for NK603 events.

Table 1 shows the five levels of unknown samples used in the verification of the 1507 and NK603 methods on genomic DNA of 1507xNK603

Table 1. GM contents in the unknown samples

1507 GM % (GM copy number/maize genome copy number *100)	NK603 GM % (GM copy number/maize genome copy number *100)
0.10	0.10
0.50	0.50
0.90	1.00
2.00	2.00
5.00	5.00

3. Experimental design

Five experiments for each method were carried out. In each run, samples were analyzed in parallel with both the GM-specific system and the reference system. Five GM levels were examined per run in two replicate samples. Each sample was analyzed in triplicate. On the whole, for each method (1507 and NK 603), quantification of the five GM levels was performed as an average of ten replicate samples/GM level, each resulting from an average of three repetitions. The 5.0% sample analysed with the NK603 method was quantified according to eleven measurements.
An internally validated Excel spreadsheet was used for the calculations of the GM% of all samples.

4. Method

4.1 Description of the operational steps

For specific detection of event 1507 genomic DNA, a 58-bp fragment of the recombination region of parts of the construct inserted into the plant genome is amplified using two specific primers. PCR products are measured during each cycle (real-time) by means of a target-specific oligonucleotide probe labelled with two fluorescent dyes: FAM as a reporter dye at its 5′ end and TAMRA as a quencher dye at its 3′ end.

For relative quantification of event 1507 DNA, a maize-specific reference system amplifies a 79-bp fragment of *hmg* (high mobility group), a maize endogenous gene, using a pair of *hmg* gene-specific primers and an *hmg* gene-specific probe labelled with FAM and TAMRA.

For specific detection of event NK603 genomic DNA, a 108-bp fragment of the recombination region of parts of the construct inserted into the plant genome is amplified using two specific primers. PCR products are measured during each cycle (real-time) by means of a target-specific oligonucleotide probe labelled with two fluorescent dyes: FAM as a reporter dye at its 5′ end and TAMRA as a quencher dye at its 3′ end.

For relative quantification of event NK603 DNA, a maize-specific reference system amplifies a 70-bp fragment of *Adh1* (alcohol dehydrogenase 1), a maize endogenous gene, using a pair

of *Adh1* gene-specific primers and an *Adh1* gene-specific probe labelled with FAM and TAMRA.

The standard curves are generated both for the *hmg* and 1507 system as well as for the *Adh1* and the NK603 system respectively, by plotting the Ct-values measured for the calibration points against the logarithm of the DNA copy numbers, and by fitting a linear regression line into these data.
Thereafter, the standard curves are used to estimate the copy numbers in the unknown sample DNA by interpolation from the standard curves.

For the determination of the amount of 1507 (or NK603) DNA in the unknown sample, the 1507 (or NK603) copy number is divided by the copy number of the maize reference gene *hmg* (or *Adh1*) and multiplied by 100 to obtain the percentage value (GM% = GM-specific system/maize reference system * 100).

For detailed information on the preparation of standard curve calibration samples refer to the protocols of validated methods under http://gmo-crl.jrc.it/summaries/NK603-WEB-Protocol%20Validation.pdf and http://gmo-crl.jrc.it/summaries/TC1507-WEB-Protocol-Validation.pdf.

5. Deviations reported

No deviation from the protocols of the two validated methods was introduced.

6. Summary of results

6.1. PCR efficiency and linearity

The values of the slopes [from which the PCR efficiency is calculated using the formula ((10^(-1/slope))-1)*100] of the standard curves and of the R^2 (expressing the linearity of the regression) reported for both PCR systems in the five runs, is summarised in Table 1 and 2.

Table 1. Values of standard curve slope, PCR efficiency and linearity (R^2) for the TC1507 method on 1507xNK603

Run	1507			*hmg*		
	Slope	PCR Efficiency (%)	Linearity (R^2)	Slope	PCR Efficiency (%)	Linearity (R^2)
1	-3,14	91,79	0,99	-3,22	95,64	1,00
2	-3,10	89,96	0,99	-3,18	93,95	1,00
3	-3,16	92,66	1,00	-3,18	93,56	1,00
4	-3,19	94,02	0,99	-3,19	93,95	1,00
5	-3,09	89,55	0,99	-3,18	93,83	1,00
Mean	-3,14	91,60	0,99	-3,19	94,18	1,00

Table 2. Values of standard curve slope, PCR efficiency and linearity (R^2) for the NK603 method on 1507xNK603

Run	NK603			*Adh1*		
	Slope	PCR Efficiency (%)	Linearity (R^2)	Slope	PCR Efficiency (%)	Linearity (R^2)
1	-4,03	76,95	0,99	-3,39	97,38	1,00
2	-3,82	82,84	1,00	-3,40	96,86	1,00
3	-3,73	85,40	1,00	-3,35	98,98	1,00
4	-3,85	81,88	0,99	-3,28	101,88	1,00
5	-3,84	82,04	0,99	-3,27	102,22	1,00
Mean	-3,85	81,82	0,99	-3,34	99,46	1,00

Data reported in Table 1 and 2 confirm the good performance characteristics of the method tested.

In fact, the R^2 value of the regression line for the 1507 method is above 0.99; similarly the R^2 value of the regression line for the NK603 system is close to 1.00.

PCR efficiencies are above 90%, with the exception of the NK603 specific system (81.8%).

6.2. Method performance requirements

The results of the in-house verification for the 1507 and NK603 methods are reported in Table 3. These are evaluated with respect to the method acceptance criteria and performance requirements, as established by ENGL and adopted by CRL.

In table 3 estimates of both accuracy and precision for each GM level and for both methods are reported.

Table 3. Estimates of accuracy and precision for the 1507 and NK603 systems on maize 1507xNK603

1507					
Unknown sample GM%	**Expected value (GMO %)**				
	0,10	**0,50**	**0,90**	**2,00**	**5,00**
Mean	**0,074**	**0,41**	**0,88**	**2,08**	**5,51**
SD	0,01	0,04	0,11	0,19	0,27
RSDr (%)	13,14	10,75	12,37	9,33	4,94
Bias%	-26,39	-17,73	-1,73	3,80	10,29
NK603					
Unknown sample GM%	**Expected value (GMO %)**				
	0,10	**0,50**	**1,00**	**2,00**	**5,00**
Mean	**0,09**	**0,46**	**0,89**	**1,57**	**5,37**
SD	0,01	0,10	0,14	0,24	0,87
RSDr%	16,24	21,69	15,67	15,24	16,12
Bias%	-9,30	-8,60	-11,11	-21,73	7.37

According to the ENGL acceptance criteria, the accuracy of the quantification, measured as bias from the accepted value, should be within 25% over the whole dynamic range, and the relative repeatability standard deviation, which measures the intra-laboratory variability, should lie within 25% at each GM-level.

As shown in Table 3, it can be observed that the accuracy of the DAS1507 system is acceptable over the whole dynamic range, with a minor deviation at the lowest GM level, namely 0.10%. The relative repeatability standard deviation (RSDr) is well within the limits set by the acceptance criteria. Similarly, the RSDr of the NK603 system is definitely acceptable at all tested GM concentrations and its bias maintains below the 25% at each GM

concentration showing a maximum (-21.73%) at the 2.00% level. Thus, the two methods fully satisfy the acceptance criteria for CRL verification of GMO detection and quantification methods previously validated through collaborative trial on the parental maize lines.

6.3. Comparison of method performance between stacked and parental line

A synoptic comparison of the two method performances in the stacked maize and parental lines respectively, is shown in Table 4 and 5.

The 1507 method has similar performance characteristics in the stacked product as in the parental line with a minor exception at the 0.10% level, as evaluated by checking both accuracy and precision of the method in respect of the ENGL minimum acceptance criteria.

Table 4. Comparison of accuracy and precision of DAS1507 method in the stacked and parental line

Accuracy and precision of 1507 quantitation in 1507xNK603			Accuracy and precision of 1507 quantitation in parental line 1507*		
GM%	**Bias (%)**	**RSDr (%)**	**GM%**	**Bias (%)**	**RSDr (%)**
-	-	-	**0.00**	0.00	0.00
0,10	-26,39	13,14	**0.10**	6.00	18.11
0,50	-17,73	10,75	**0.50**	-4.00	11.70
0.90	-1,73	12,37	**0.90**	3.70	7.68
2,00	3,80	9,33	**2.00**	-1.70	8.48
5,00	10,29	4,94	**5.00**	8.40	14.41

***method validated (http://gmo-crl.jrc.it/statusofdoss.htm)**

Table 5. Comparison of accuracy and precision of NK603 method in the stacked and parental line

Accuracy and precision of NK603 quantitation in 1507xNK603			Accuracy and precision of NK603 quantitation in parental line NK603*		
GM%	**Bias (%)**	**RSDr (%)**	**GM%**	**Bias (%)**	**RSDr (%)**
0,10	-9,30	16,24	**0.10**	83.00	24.25
0,50	-8,60	21,69	**0.49**	72.86	15.24
1,00	-11,11	15,67	**0.98**	46.50	17.16
2,00	-21,73	15,24	**1.96**	14.03	7.69
5,00	6,28	16,07	**4.91**	22.08	21.63

***method validated (http://gmo-crl.jrc.it/statusofdoss.htm)**

The NK603 method shows better performances in the stacked product as compared to the performances displayed on the parental line in terms of accuracy of quantitation. Therefore, the in-house method verification has demonstrated that the 1507 and the NK603 methods can be equally applied in quantitation of the respective events in the stacked maize product.

7. Conclusions

The overall method performance has been evaluated with respect to the method acceptance criteria and method performance requirements recommended by the ENGL (available under http://gmo-crl.jrc.it). The method acceptance criteria were reported by the applicant and used to evaluate the method prior the in-house verification.

The results obtained during the present study indicate that the methods validated on the parental GM lines show a comparable performance when applied to the material combining the two traits.

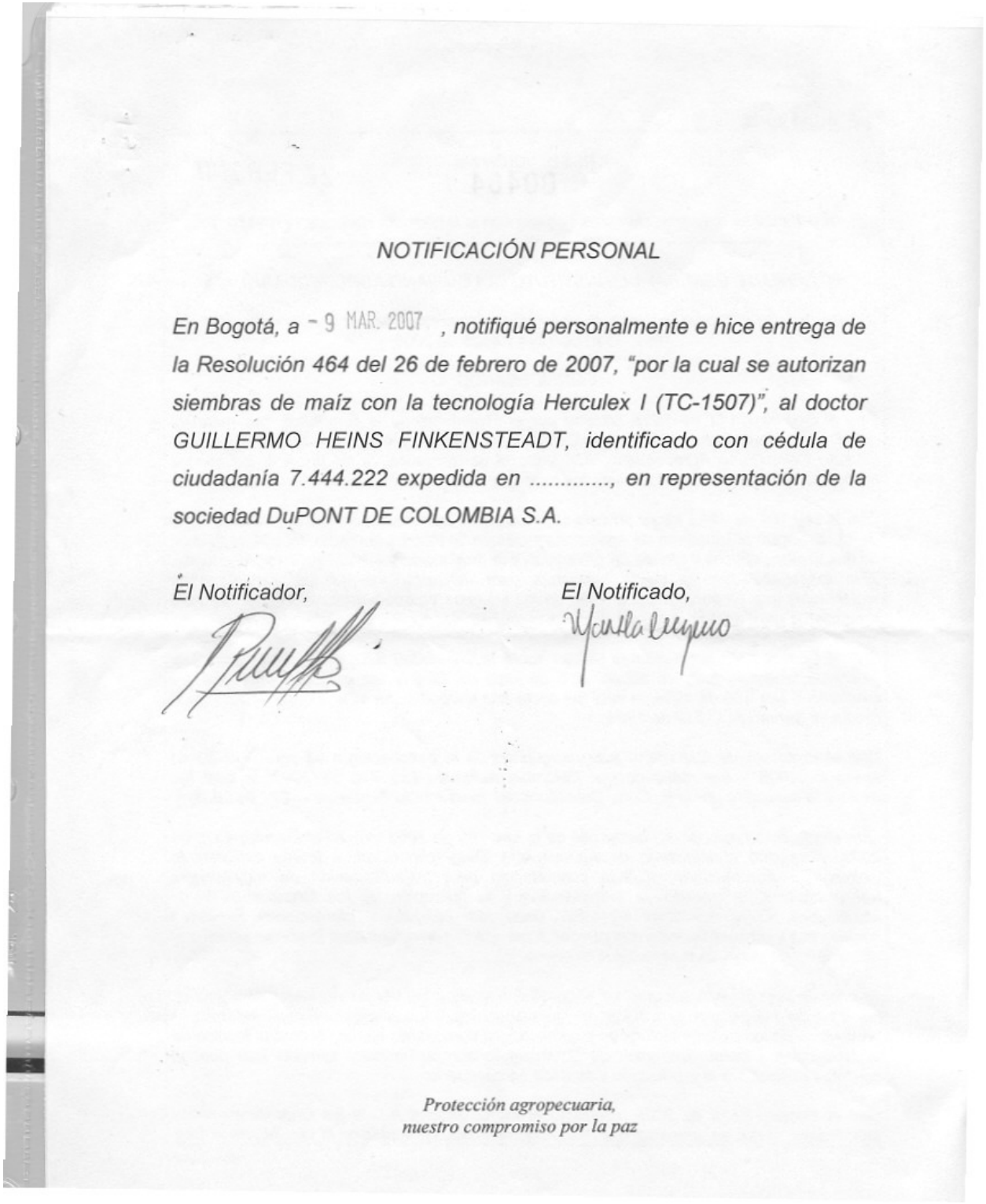
8. References

Arumuganathan, K., Earle, E.D. (1991). Nuclear content of some important plant species. Plant Mol Biol Reporter 9, 208-218.

Horwitz, W. (1995) Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies, *Pure and Appl. Chem*, **67**, 331-343.

International Standard (ISO) 5725. 1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. International Organization for Standardization, Genève, Swizerland.

ANEXO IX. Resolución ICA 464/7.



NOTIFICACIÓN PERSONAL

En Bogotá, a - 9 MAR. 2007 , notifiqué personalmente e hice entrega de la Resolución 464 del 26 de febrero de 2007, "por la cual se autorizan siembras de maíz con la tecnología Herculex I (TC-1507)", al doctor GUILLERMO HEINS FINKENSTEADT, identificado con cédula de ciudadanía 7.444.222 expedida en ....., en representación de la sociedad DuPONT DE COLOMBIA S.A.

El Notificador, *El Notificado,*

Protección agropecuaria,
nuestro compromiso por la paz

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural
INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA

RESOLUCIÓN No. (00464) 26 FEB 2007

por la cual se autorizan siembras de maíz con la tecnología Herculex I (TC-1507)

EL GERENTE GENERAL DEL INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, ICA

en uso de sus facultades legales y en especial por las conferidas por los Decretos 2141 de 1992, 1840 de 1994 y 4525 de 2005, y

CONSIDERANDO:

Que el Decreto 2141 de 1992, dictado por el Presidente de la República, por mandato directo del artículo transitorio 20 de la Constitución Pública de Colombia de 1991, asignó al Instituto Colombiano Agropecuario, ICA entre otras funciones, la de prevenir los riesgos biológicos, sanitarios y químicos para las especies animales y vegetales;

Que la Ley 101 de 1993 en su artículo 65, modificado por el artículo 112 del Decreto 2150 de 1995, asignó al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, por medio del ICA, la función de desarrollar políticas y planes de protección a la producción y productividad agropecuaria, y la responsabilidad de ejercer acciones para minimizar los riesgos alimentarios y ambientales que provengan del empleo de los insumos agropecuarios, lo mismo que para promover la producción y productividad agropecuaria;

Que el Convenio de las Naciones Unidas sobre la Diversidad Biológica, denominada "Ley global en Biodiversidad", se adoptó el 5 de junio de 1992 y fue ratificada por Colombia mediante la Ley 165 de 1994, la cual fue declarada exequible por la H. Corte Constitucional mediante Sentencia C-519 de 1994;

Que el Protocolo de Cartagena sobre seguridad de la biotecnología se aprobó el 29 de enero de 2000 y fue ratificado por Colombia mediante Ley 740 de 2002; la cual fue declarada exequible por la H. Corte Constitucional mediante la Sentencia C-071 de 2003;

Que el gobierno nacional, en desarrollo de la Ley 740 de 2002 expidió el Decreto 4525 de 2005, y designó al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, a través del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA la competencia para la autorización de movimientos transfronterizos, el tránsito, la manipulación y la utilización de los Organismos Vivos Modificados, OVM con fines agrícolas, pecuarios, pesqueros, plantaciones forestales comerciales y agroindustriales que puedan tener efectos adversos para la conservación y la utilización sostenible de la diversidad biológica;

Que es función del ICA adoptar, de acuerdo con la ley y las demás normas mencionadas, las medidas necesarias para hacer efectivo el control de la sanidad animal, vegetal y la prevención de los riesgos biológicos y químicos así como la de ejercer el control técnico de la producción y comercialización de los insumos agropecuarios y semillas que puedan constituir riesgo para la producción y sanidad agropecuaria;

Que el Decreto 4525 de 2005 estableció el marco regulatorio de los Organismos Vivos Modificados, OVM de acuerdo con los procedimientos señalados en la Ley 740 de 2002 y

forma 4-027

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural
INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA

RESOLUCIÓN No. (00464) 26 FEB 2007

por la cual se autorizan siembras de maíz con la tecnología Herculex I (TC-1507)

---

creó el Comité Técnico Nacional de Bioseguridad, CTNBio para OVM con fines agrícolas, pecuarios, pesqueros, plantaciones forestales comerciales y agroindustria cuya función es, entre otras recomendar al Gerente General del ICA la expedición del acto administrativo para la autorización de actividades solicitadas con organismos vivos modificados;

*Que la empresa Du Pont de Colombia S.A., en el marco de la legislación vigente, solicitó autorización al ICA para introducir, producir y comercializar en Colombia el maíz con la tecnología Bt Herculex I (TC-1507), desarrollado conjuntamente entre Dow AgroSciences y Pioneer Hi-Bred Internacional Inc., a partir de una proteína natural de **Bacillus thuringiensis** – Bt, de nombre Cry1F. El producto también presenta tolerancia al glufosinato;*

Que el maíz con la tecnología Bt Herculex I (TC-1507) contiene el gen Cry 1F que codifica la síntesis de pequeñas cantidades de proteína Cry1F en los tejidos de la planta de maíz proveyéndole protección contra insectos lepidópteros;

Que la solicitud fue analizada por el CTNBio el cual recomendó que se adelantaran estudios de bioseguridad con maíz con la tecnología Herculex I ® (TC-1507) en las zonas maiceras del país, con el objetivo de determinar el transporte del polen del híbrido de maíz con tecnología Herculex I ®(TC-1507); los efectos de la proteína Cry1F sobre los artrópodos no objetivo presentes en regiones maiceras de Colombia; el efecto de la proteína Cry1F sobre insectos lepidópteros en el cultivo del maíz y la evaluación de la eficacia del gen con la tecnología Herculex I (TC-1507) con resistencia a glufosinato de amonio en maíz;

Que en Colombia se realizaron los estudios de bioseguridad en el 2006, en el departamento de Córdoba y de acuerdo con los resultados de estos ensayos, no hubo efecto negativo de la tecnología Herculex I (TC-1507) sobre el agroecosistema donde se desarrollaron los estudios;

Que en las sexta y séptima sesiones del Comité Técnico Nacional de Bioseguridad CTNBio, llevadas a cabo el 31 de enero y el 23 de febrero de 2007 respectivamente, se presentaron los resultados obtenidos en los estudios de bioseguridad realizados del flujo genético de maíz modificado genéticamente hacia convencional en el departamento de Córdoba; "la evaluación de la eficacia del gen con la tecnología Herculex I con resistencia a glufosinato de amonio en maíz"; la evaluación del efecto de la tecnología Herculex I (TC-1507) sobre poblaciones de artrópodos en el cultivo del maíz en la subregión Caribe húmedo colombiano, habiéndose encontrado en todos los experimentos realizados, que la mayoría del polen marcador amarillo se depositó en las mazorcas blancas que estuvieron en los primeros 50m a partir de la fuente de polen, siendo los resultados consistentes con lo encontrado en otros países donde se ha evaluado el flujo de polen de maíz bien sea genéticamente modificado o convencional, el viento deposita el polen en mayor porcentaje a 25-50m de la fuente por lo que no se considera que genere contaminación mas allá de lo normal sobre cualquier otro tipo de maíz incluyendo materiales silvestres que se pudiesen encontrar en la vecindad;

RESOLUCIÓN No. (00464) 26 FEB 2007

por la cual se autorizan siembras de maíz con la tecnología Herculex I (TC-1507)

Que el análisis global de los resultados lleva a concluir que cuando se aplica en forma total el herbicida sobre el cultivo como se verifico con el híbrido Herculex I tolerante al herbicida, se alcanzaron porcentajes de control de malezas entre 80 y 99 por ciento, dependiendo del número de aplicaciones y la dosis aplicada;

Que se pudo establecer que no ocurrió un daño evidente, en las condiciones en que se realizó el estudio, que pudiera afectar el rendimiento del cultivo. Los resultados indican que la aplicación del herbicida glufosinato de amonio tanto en maíces con el gen de resistencia como en maíces convencionales no afecta las características agronómicas del cultivo, como lo señala la comparación de medias para los diferentes caracteres agronómicos estudiados entre métodos de aplicación. De la misma forma las características agronómicas entre maíces con el gen del glufosinato y maíces convencionales no muestran diferencias;

Que todo lo anterior sugiere una alta eficacia del herbicida para control de malezas y de la misma forma una alta eficiencia del gen para inducir tolerancia al cultivo de manera que las aplicaciones se pueden realizar en diferentes etapas del cultivo y con diferentes dosis según lo requieran las condiciones prevalentes sin afectar ninguna de las características agronómicas importantes, por lo tanto esta tecnología cuando se decida su liberación comercial, por bioseguridad, además de tener un plan de manejo para insectos lepidópteros deberá tener un plan para el manejo de herbicidas;

Que la tecnología Herculex I (TC-1507) en los estudios que se adelantaron sobre artrópodos no presentó efecto negativo alguno sobre las poblaciones naturales de la mesofauna del suelo que se capturaron en muestras de suelo y que no son objetivo de la tecnología;

Que se puede afirmar que los datos son altamente confiables y consistentes con lo observado por la mayoría de otros investigadores que han adelantado experimentos similares;

Que en la séptima sesión del Comité Técnico Nacional de Bioseguridad, CTNBio realizada el 23 de febrero de 2007 se analizó la situación del cultivo del maíz en Colombia, los problemas de calidad y costos que se están presentando, junto con las grandes proyecciones que tiene esta gramínea en el campo de los biocombustibles, así como la posibilidad de que se disponga de nuevas y mejores tecnologías que permitan mayor margen de ganancia para el productor y para el país;

Que el cultivo del maíz en los últimos años ha alcanzado una gran importancia en el ámbito nacional e internacional debido a la oportunidad de utilizar esta especie en la producción de biocombustibles y en el caso colombiano, este cultivo se ve afectado por problemas sanitarios que inciden en la producción haciendo perder competitividad y sostenibilidad;

Que la producción de biocombustibles a partir de vegetales se encuentra entre los principales medios para combatir el cambio climático, propósito internacional adoptado por un importante grupo de países a través del Protocolo de Kyoto, que contempla ventajas y

RESOLUCIÓN No. (00464) 26 FEB 2007

por la cual se autorizan siembras de maíz con la tecnología Herculex I (TC-1507)

---

ayudas financieras de la comunidad internacional para los países y entidades que lo implementen;

Que el fomento de la producción de biocombustibles a partir de vegetales en Colombia representa para el país disminución de la dependencia del país de los combustibles fósiles (importaciones), beneficios ambientales ya que son productos biodegradables, el 85 por ciento se degrada en aproximadamente 28 días, lo cual representa una reducción en los niveles de contaminación;

Que la Agencia Internacional de Energía, IEA predice que el etanol tiene el potencial de suplir el 10 por ciento de la gasolina utilizada en el mundo para el año 2025 y el 30 por ciento en 2050, comparado con el 2 por ciento del año 2005;

Que actualmente, el etanol se produce de una gran variedad de productos agrícolas como caña, maíz, remolacha, trigo, cebada, yuca, entre otros; sin embargo, la producción mundial se basa principalmente en la caña de azúcar (Brasil) y el maíz (Estados Unidos);

Que Colombia demanda alrededor de 3,5 millones de toneladas de maíz, de las cuales importa 2 millones principalmente de Estados Unidos;

Que entre las plagas de mayor importancia económica para este cultivo están el ***Spodoptera*** *y* ***Diatraea saccharalis****, conocida esta última como el "barrenador del tallo" que es una de las plagas más importantes del cultivo de maíz ya que este insecto ocasiona, en promedio, pérdidas de un 30 por ciento de la producción de maíz. Otra plaga de gran importancia en algunas áreas del país es el complejo* ***Heliothis virences*** *y* ***H. zea*** *que en algunos casos llega a afectar el 20 por ciento de la producción de mazorcas, trayendo todos estos insectos altos costos por el concepto del control de plagas y por consiguiente, bajos rendimientos del cultivo de maíz y daños ambientales por el uso excesivo de plaguicidas químicos, lo que no permite que el agricultor sea competitivo en el mercado nacional y el país se inserte en el mercado internacional;*

Que el agricultor maicero colombiano invierte entre una y dos aplicaciones de insecticida por ciclo de cultivo en el control de ***Spodoptera*** *y otros insectos plaga de incidencia temprana en el cultivo. En la mayoría de los casos, el agricultor hace nada respecto a la incidencia de* ***Diatraea*** *el cual causa daños y pérdidas al cultivo que poco se cuantifican porque se dan hacia el final del ciclo de cultivo e irregularmente, porque muchos lotes se inspeccionan poco en tal estado y porque los ataques de* ***Diatraea*** *son poco evidentes a menos que causen volcamiento apreciable y/o se inspeccionen las plantas con detenimiento;*

Que en general, se hacen tres aplicaciones por año contra ataques de insectos en estado temprano de desarrollo del maíz por año de cultivo, incluido el ***Spodoptera****, y se estima que la mitad de esas aplicaciones las ahorrará con el uso de maíz modificado genéticamente contra* ***Spodoptera****, lo cual implica beneficios al agricultor al reducir el costo de producción y al ambiente en general al fomentar un uso racional de insecticidas en el campo;*

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural
INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA

RESOLUCIÓN No. (00464) 26 FEB 2007

por la cual se autorizan siembras de maíz con la tecnología Herculex I (TC-1507)

Que el maíz resistente a insectos plaga (maíz Bt) lo sembraron por vez primera los agricultores en el año de 1996 en los Estados Unidos y Canadá. Argentina y España comenzaron a plantar maíz Bt en 1998 seguidos por Sudáfrica en el año 2000 y las Filipinas en el año 2003. En el 2004, Uruguay y Honduras comenzaron la siembra comercial del maíz Bt;

Que el principal impacto del maíz Bt ha sido el de un incremento del rendimiento (5%-25%) debido a una mejor protección contra las plagas de insectos que atacan al cultivo. Esto ha dado como resultado beneficios económicos significativos para los agricultores. En algunos países como España, además del incremento en rendimiento, el maíz Bt ayudó a reducir los costos de producción, dando como resultado ganancias económicas del orden de $112 dólares por hectárea. En términos globales, el valor neto para los agricultores que sembraron maíz Bt fue superior a los $400 millones de dólares en el 2004 y el acumulado, a partir del año 1996, supera los 1,900 millones de dólares;

Que los cultivos de maíz Bt también han generado beneficios ambientales significativos. Desde que el maíz Bt fue introducido por primera vez en los Estados Unidos en el año 1996, el volumen promedio de uso de insecticidas ha disminuido en 1 millón de kg de i.a. (ingrediente activo) lo que representa un 11% del total. En Canadá se tienen reducciones similares. En España, el uso de insecticidas ha disminuido en un 32% desde 1998. En algunos países como Argentina, donde tradicionalmente se utilizan muy escasamente los insecticidas en la producción de maíz, la reducción de insecticidas fue pequeña pero el beneficio por adopción del maíz Bt se observa en el incremento del rendimiento debido a un mejor control de los insectos;

Que en el conjunto de países que sembraron maíz Bt durante 2004, el resultado neto fue de una reducción del 10 por ciento en el volumen de insecticidas utilizado (1.2 millones de Kg de i.a.) y una reducción del 11 por ciento en el impacto ambiental;

Que el maíz tolerante a herbicida se sembró comercialmente por vez primera en 1997 en los Estados Unidos y Canadá. Sudáfrica comenzó a plantar maíz tolerante a herbicida en el año 2003 y fue seguida por Argentina en el año 2004;

Que en los Estados Unidos y Canadá el principal beneficio del maíz tolerante a herbicida ha sido la reducción en los costos de producción como resultado de la disminución en el costo del control de la maleza. Esto ha permitido aumentar de manera significativa el beneficio económico de los agricultores entre $21 a $45 dólares por hectárea. En términos globales, el maíz tolerante a los herbicidas generó un importante aumento en los ingresos y beneficios ambientales;

Que los agricultores que plantan maíz tolerante a herbicida emplean un programa para el control de maleza diferente al utilizado por los agricultores que siembran maíz convencional. Los cambios en tipo de herbicidas y dosis requeridas han dado como resultado una reducción total en el volumen de herbicidas que se utilizan en el maíz tolerante a herbicida

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural
ICA INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO

RESOLUCIÓN No. (00464) 26 FEB 2007

por la cual se autorizan siembras de maíz con la tecnología Herculex I (TC-1507)

---

en comparación con el maíz que no es tolerante a los herbicidas. Del mismo modo, ha habido una reducción total del impacto ambiental que se asocia con el uso de herbicida en los cultivos de maíz tolerante a herbicida. Estos cambios son muy significativos ya que reducen el impacto ambiental de la agricultura y reducen la exposición de los agricultores y de la fauna silvestre;

Que las anteriores bondades de la tecnología Herculex I justifican su valoración para uso agrícola en Colombia;

Que teniendo en cuenta lo anterior, el CTNBio, del cual hacen parte los Ministerios de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial; de la Protección Social; de Agricultura y Desarrollo Rural; Colciencias y el ICA, por consenso concluyó que desde el punto de vista técnico y científico y con los elementos de orden económico y social expuestos, se puede recomendar al ICA autorizar siembras controladas de maíz con la tecnología Herculex (TC 1507), de acuerdo con la demanda por parte de agricultores que tiene que estar soportada por la compañía titular de la tecnología y obviamente, aplicando estrictamente un Plan de bioseguridad y manejo para esta tecnología;

Que estas siembras se deben realizar en el área de influencia donde se adelantaron los estudios de bioseguridad (Caribe húmedo), exceptuando áreas de resguardos indígenas y dejando como mínimo 300 metros de distancia de cultivos de maíces convencionales. El uso de la cosecha de estas siembras estará dirigido a la alimentación directa o procesamiento para consumo animal, y consumo humano, de acuerdo con las autorizaciones que tienen para esos fines, quedando prohibido conservar, guardar, intercambiar y/o vender cualquiera semilla con el fin de utilizarlas para siembra,

Que en virtud de lo anterior:

RESUELVE:

ARTÍCULO 1.- Autorizar al representante legal de Du Pont de Colombia S.A., NIT 890.100.454-9, (señor Guillermo Heins Finkensteadt), la importación de semillas de Maíz con la tecnología Herculex I (TC 1507) para siembras controladas en la zona agroecológica del Caribe húmedo.

PARÁGRAFO. Las semillas que se importen deberán cumplir con los estándares de calidad establecidos en el país para la especie maíz y categoría de semillas, así como con los requisitos fitosanitarios y toda norma sobre empaques y-o envases, rotulado, etiquetas y marbetería establecidos en la Resolución ICA 148 de 2005.

ARTICULO 2.- Que las siembras se harán de acuerdo con la demanda por parte de agricultores que tienen que estar soportadas por la Compañía titular de la tecnología.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural
INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO
ICA

RESOLUCIÓN No. (00464) 26 FEB 2007

por la cual se autorizan siembras de maíz con la tecnología Herculex I (TC-1507)

PARAGRAFO. Para autorizar las cantidades a importar la compañía deberá enviar al ICA, antes de cada cosecha, un listado de los agricultores interesados en realizar las siembras señalando ubicación del predio y área a sembrar. Las siembras no se podrán hacer en áreas de resguardos indígenas y siempre dejando como mínimo 300 metros de distancia de cultivos de maíces convencionales. El ICA podrá no autorizar siembras dependiendo del caso.

ARTICULO 3. El uso de híbridos de maíz con la tecnología Herculex I (TC 1507) contará con un Plan de bioseguridad y manejo, el cual contiene todas las medidas de bioseguridad previstas para el uso de esta nueva tecnología.

PARÁGRAFO. El uso de la cosecha de estas siembras estará dirigido a la alimentación directa o procesamiento para consumo animal, y consumo humano, de acuerdo con las autorizaciones que tienen para esos fines, quedando prohibido conservar, guardar, intercambiar y/o vender cualquiera semilla con el fin de utilizarlas para siembra.

ARTICULO 4.- La sociedad Du Pont de Colombia S.A. queda obligada a realizar seguimiento a la tecnología cumpliendo lo estipulado en el plan de bioseguridad y manejo, enviando al ICA informes bimensuales de todas las acciones exigidas en el seguimiento a la tecnología.

ARTICULO 5.- Las siembras que se hagan con los híbridos de maíz con la tecnología Herculex I (TC 1507) deben cumplir las normas establecidas para la producción, importación, exportación, distribución y comercialización de semillas para siembra en el país consignadas en las Resoluciones ICA 148 del 18 de enero de 2005, 946 de 2006 y demás normas vigentes sobre la materia.

ARTÍCULO 6.- El incumplimiento de lo previsto en la presente Resolución, en las demás normas que rigen la materia y las acciones que el ICA ordene en ejercicio de su función de seguimiento y control, dará lugar a la aplicación de las sanciones previstas por el Decreto 1840 de 1994, sin perjuicio de las acciones penales y civiles que correspondan.

ARTICULO 7.- En aplicación del principio de precaución o por razones de bioseguridad, cuando el ICA lo estime necesario, podrá destruir todo el material que contenga la tecnología Herculex I (TC 1507) sin derecho a indemnización y sin consentimiento previo del titular.

ARTÍCULO 8.- La presente Resolución rige a partir de la fecha de su expedición.

COMUNÍQUESE Y CÚMPLASE.
Dada en Bogotá, a

ANDRÉS VALENCIA PINZÓN
Gerente General

Proyectó: Dr. Jaime Cárdenas López
Revisión Jurídica: Dra. Norma Piedrahita Marroquín
gloria inés b. (26 febrero 2007)

forma 4-027

ANEXO X. Manual de buenas practicas de siembra
MANEJO DEL RIESGO

Lineamientos para buenas prácticas de experimentación.

El objetivo principal de estos ensayos es demostrar que mediante la aplicación de los principios del manejo de riesgo, y el uso de protocolos científicos, las pruebas de campo con maíz genéticamente modificado (GM) se pueden desarrollar en forma segura en México.

Los protocolos fueron elaborados con la finalidad de generar información que permita a los reguladores Mexicanos tomar decisiones fundamentadas en datos científicos generados en nuestro país sobre la incorporación de maíz GM en las prácticas agrícolas tradicionales.

Para evaluar el efecto potencial de un transgén en maíces híbridos se propone medir su comportamiento agronómico en comparación con material convencional de fondo genético común en diferentes ambientes dentro de la Republica Mexicana. De esta manera se tendrá información tanto de efectos no esperados que pudiesen modificar sus características agronómicas como de la adquisición de características no deseables de adaptación que pudieran estar relacionadas con una nueva capacidad para desplazar a otras plantas.

Como toda tecnología, es necesario también medir los posibles beneficios que los maíces GM con características específicas proporcionarían a los productores Mexicanos. El beneficio potencial de esta tecnología para la productividad nacional se evaluará en campo observando el desempeño de las diferentes características conferidas mediante la biotecnología al maíz (resistencia a insectos plaga, tolerancia a herbicidas) respecto de sus contrapartes convencionales que utilicen opciones convencionales de manejo agronómico para contender con plagas y maleza y así establecer con parámetros analíticos científicamente sustentados su beneficio para la práctica agrícola nacional.

1.- PROPÓSITO

La conducción segura de evaluaciones de campo experimentales con OGMs de uso agrícola sólo puede lograrse a través de la combinación de un marco regulatorio, medidas de manejo del riesgo sustentadas científicamente, personal regulatorio capacitado y comprometido con su tarea y personal de campo capacitado que respete los términos y condiciones de la autorización del ensayo.

El objetivo de este documento es:

- Permitir el cumplimiento de los términos y condiciones de autorización para la realización de los ensayos de campo mediante un manejo responsable y uniforme de los protocolos experimentales.

2.- ALCANCE

Están obligados a cumplir con lo establecido en el presente anexo todas aquellas personas responsables del desarrollo de la investigación.

3.- RESPONSABILIDADES

La asignación de responsabilidades específicas para el desarrollo, ejecución y seguimiento serán definidas por Pioneer de México.

4. DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES

Las actividades en el desarrollo, ejecución y seguimiento estarán a cargo y serán definidas por la Pioneer de México.

ENFOQUE PARA EL MANEJO DEL RIESGO EN LIBERACIONES DE CAMPO EXPERIMENTALES

El riesgo comúnmente se expresa como el producto de dos distribuciones de probabilidad: la probabilidad de exposición a un efecto adverso y la probabilidad que ese efecto adverso pueda ocasionar un daño severo. La evaluación de riesgo comúnmente se define como un "proceso científico de obtención de mediciones cualitativas y cuantitativas de los niveles de riesgo, que incluye cálculos de los posibles efectos sobre la salud y otras consecuencias, así como el grado de incertidumbre en dichos cálculos", libre de factores emotivos que puedan tener influencia en la percepción del riesgo. El objetivo de la evaluación de riesgo es producir información neutral y transparente sobre el riesgo, incluyendo la identificación de posibles medidas de mitigación del riesgo, para una toma de decisiones informada

Los términos y condiciones que rigen la conducción de ensayos de campo confinados incluyen previsiones específicas para el aislamiento reproductivo, el transporte seguro, la siembra, el monitoreo, la recolección de la cosecha, el almacenamiento, la disposición final y el informe final (incluyendo el desarrollo de archivos y el acceso a los registros del ensayo). Estos términos y condiciones, junto con un sistema de inspección gubernamental, ofrecen un sistema de controles que permiten que los organismos vegetales genéticamente modificados en experimentación sean evaluados en pequeña escala y con seguridad.

Las medidas de mitigación del riesgo que rigen la conducción segura de ensayos de campo confinados comprenden un enfoque triple que busca: prevenir la diseminación en el ambiente de los nuevos genes a través del polen o de las semillas; prevenir la persistencia de plantas transgénicas o de su progenie en el ambiente; y prevenir la introducción de la planta transgénica o de sus productos derivados en los procesos de las cadenas alimentarias de humanos y animales. Cuando estas medidas se implementan de una manera apropiada garantizan que el ensayo de campo confinado no constituya una amenaza para el ambiente en general, para la biodiversidad o para los animales o las personas.

Tal vez el punto de control más crítico en el manejo adecuado de los ensayos de campo experimentales es:

1. Controlar el movimiento del material vegetal desde y hacia el sitio del ensayo (transporte y limpieza de cualquier maquinaria utilizada)
2. Controlar el almacenamiento de semillas y otro material vegetal;
3. Controlar la disposición del material vegetal residual o en exceso en el sitio de ensayo – puede tratarse del exceso de material de siembra, material remanente después de la cosecha y material de las actividades de limpieza.
4. Controlar la disposición de cualquier material retenido después de la cosecha, como es el caso de las semillas que se reservan para análisis subsiguientes;
5. Controlar la cosecha indebida en el lugar del ensayo; y
6. Realizar un programa de monitoreo para verificar que no se presente dispersión del OGM.

Al igual que en programas de calidad para otras cuestiones se requiere la implementación de procesos de control y documentación efectivos con el respaldo de procedimientos de inspección y verificación.

1. TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MATERIAL VEGETAL EXPERIMENTAL MODIFICADO POR INGENIERÍA GENÉTICA

1.1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se presentan los procedimientos operativos standard para el transporte y almacenamiento seguros de plantas y material vegetal modificado genéticamente.

1.2. PERSONAL

El personal debe conocer sus responsabilidades para garantizar que el material sea manipulado, empacado, etiquetado y almacenado de manera adecuada; que se lleven registros apropiados; y que en el caso de una liberación accidental se sepa qué acciones tomar y por parte de quién. Las copias de los procedimientos operativos normalizados deben encontrarse en forma accesible para todo el personal.

1.3. TRANSPORTE DE MATERIAL VEGETAL EXPERIMENTAL MODIFICADO POR INGENIERÍA GENÉTICA

Independientemente de la especie o del tipo de material vegetal embarcado, los materiales vegetales genéticamente modificados deben ser empacados en contenedores seguros y durante el transporte se deben mantener separados de otras semillas y/o material vegetal. Cualquier contenedor o formato de empaque utilizado para el transporte y almacenamiento de organismos vegetales genéticamente modificados debe poder prevenir la pérdida de semillas o de otras partes del material vegetal.

Los embarques de material vegetal genéticamente modificado deben estar claramente identificados con etiquetas. Se recomienda que la etiqueta de embarque incluya:

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



Figura 1. Ejemplo de etiqueta de embarque

Las cantidades pequeñas de semillas u otros tipos de material vegetal como tubérculos,

esquejes o plantas completas, pueden ser despachadas en un contenedor tal como una bolsa gruesa (por ejemplo 5 milésimas de pulgada de grosor) o en un sobre o paquete sellado formado por material resistente a la ruptura y la humedad (e.g. papel kraft acolchonado con burbujas de 50 lb, papel kraft recubierto de fibra gruesa del 60 lb, Tyvek™ o un equivalente). Este contenedor primario debe ser luego colocado en un contenedor secundario sellado, a prueba de goteo, que puede estar hecho con materiales como plástico termocontraíbles, aglomerado de fibra corrugada, cartón corrugado, madera u otro material de resistencia equivalente.

Para embarques más grandes de semillas, el contenedor primario debe ser una bolsa gruesa sellada dentro de un contenedor secundario sellado, a prueba de goteo, como por ejemplo un tambor metálico de 55 galones. Los embarques de lotes de semilla experimental transgénica no deben ser transportados en contenedores que posean garantías contra el derrame de la semilla, como vagones inclinados o abiertos o cajas de madera. Las bodegas de barcos, los vagones y los contenedores de camiones no deben ser considerados como contenedores primarios o secundarios.

1.3.1. Disposición final del material vegetal experimental modificado por ingeniería genética

Todos los contenedores utilizados para transportar semillas genéticamente modificadas deben limpiarse antes de ser llenados y luego de retirar de ellos el material experimental. Otra alternativa es destruir los contenedores luego de ser usados esterilizándolos, quemándolos o disponiendo el material en un relleno sanitario, según los recursos existentes. Todo material vegetal residual recuperado durante el proceso de limpieza debe ser sometido a procesos que lo hagan inviable. Tanto quien despacha como quien recibe el material vegetal experimental modificado por ingeniería genética debe saber cómo disponer de manera efectiva y segura todo el material indeseable. Los responsables de las instalaciones podrán tener en cuenta métodos tales como el calor seco, el vapor, la trituración, la incineración o el tratamiento con herbicidas y/o compuestos químicos debidamente etiquetados.

1.3.2. Registros e informes

Es importante llevar registros del transporte de materiales vegetales modificados por ingeniería genética a medida que son trasladados entre instalaciones de investigación, de almacenamiento y los predios en los que se realizarán los ensayos de campo. Estos registros podrán ser examinados por los reguladores para garantizar que haya un sistema adecuado de seguimiento de los vegetales experimentales transgénicos. El despachador debe notificar al destinatario la fecha, el tipo y cantidad de material que será enviado antes de su embarque. En el momento de recibir el material, quien los reciba debe confirmar fehacientemente que el envío ha llegado intacto y que no ha habido pérdida alguna. Posteriormente, quien recibe el envío debe informarle al despachador que el material se recibió en condiciones satisfactorias.

1.4. ALMACENAMIENTO DE MATERIALES VEGETALES EXPERIMENTALES MODIFICADOS POR INGENIERÍA GENÉTICA

Los tres aspectos claves para el almacenamiento adecuado del material vegetal son: separación, seguridad y etiquetado.

Generalmente, una área apropiada de almacenamiento es aquella en la que el material vegetal pueda guardarse en forma separada de otros materiales vegetales experimentales o convencionales. Cuando sea pertinente, el área debe ser un espacio completamente cerrado (por ejemplo, cabina, oficina, armario, cuarto refrigerado) con puertas de acceso que puedan ser cerradas y aseguradas. Si posee ventanas, también se deben cerrar y asegurar. Cuando se utiliza un área única de almacenamiento para guardar distintas muestras de uno o más eventos transgénicos, cada línea, variedad o evento se debe almacenar por separado en un contenedor sellado y etiquetado. Este puede ser, además, el contenedor primario usado para el embarque.



Figura 2. Ejemplo de una etiqueta de identificación para el lugar de ingreso a un área de almacenaje

Las áreas de almacenaje serán etiquetadas mencionando que contienen material vegetal experimental genéticamente modificado. Las etiquetas deben adherirse a los contenedores en el lugar de entrada, recomendándose que el acceso a los depósitos se restrinja sólo al personal autorizado. En la Figura 2 se presenta un modelo de etiqueta del área de almacenaje.

1.4.1. Disposición final de vegetales modificados genéticamente

Las áreas de almacenamiento se deben limpiar antes e inmediatamente después del periodo de almacenamiento. Todo el material residual recuperado durante la limpieza debe someterse a tratamientos que lo hagan inviable y desecharse por los medios apropiados. Esto también se aplica para todo material vegetal experimental que se extraiga del almacenamiento con el propósito de desecharlo.

1.4.2. Registros e informes

Es conveniente llevar un inventario de todo el material vegetal transgénico almacenado y de las submuestras que puedan ser sacadas del área de almacenamiento con fines experimentales u otros propósitos. Esto permite garantizar que la parte autorizada puede efectuar el seguimiento de los materiales experimentales almacenados y que puede identificar con certeza si algún material ha sido retirado sin permiso. Igualmente, es importante garantizar que las áreas de depósito sean mantenidas adecuadamente para que no haya liberaciones no intencionales de los materiales vegetales. El área de almacenamiento debe ser inspeccionada a intervalos regulares y se debe llevar un registro de estas inspecciones.

1.5. ACCIONES CORRECTIVAS EN EL CASO DE UNA LIBERACIÓN ACCIDENTAL

En el caso de una liberación accidental de material vegetal experimental durante el transporte o el almacenamiento, el incidente debe mantenerse bajo control y la persona a quien se otorgó el permiso (la parte autorizada) debe ser notificada de inmediato acerca de la situación. Si ya ha ocurrido una liberación accidental, la parte autorizada deberá asegurar la recuperación de la mayor cantidad posible del material experimental transgénico. El lugar de una liberación accidental debe ser marcado y manejado para asegurar que no haya liberaciones adicionales del material. Todas las acciones correctivas adoptadas para resolver una liberación accidental durante el transporte o el almacenamiento deben documentarse.

Después que la acción correctiva ha sido adoptada para resolver una cuestión de incumplimiento de la norma, la parte autorizada deberá llevar a cabo un análisis de la situación

para identificar sus causas y luego determinar los cambios que sea necesario introducir en las prácticas de manejo o sino contar con personal adicional capacitado para garantizar que la situación no se reitere.

2. MANEJO DEL LUGAR DEL ENSAYO.

2.1. INTRODUCCIÓN

Los ensayos de campo experimentales con organismos vegetales genéticamente modificados ofrecen a los investigadores, tanto del sector público como privado, la oportunidad de evaluar el desempeño agronómico y la adaptación al ambiente de estos materiales. Para evitar las liberaciones accidentales, los ensayos de campo se manejan de acuerdo con un conjunto de prácticas diseñadas buscando el confinamiento durante el ciclo del cultivo y el período post cosecha. Estas prácticas suelen incluir métodos de aislamiento reproductivo y monitoreo del lugar. El manejo seguro de los ensayos debe garantizar que ningún material vegetal proveniente de los mismos sea empleado en los procesos vinculados con la cadena alimentaria humana o animal sin consultar y contar con la autorización previa de las autoridades regulatorias pertinentes (de salud).

Este capítulo presenta información sobre las prácticas que se pueden adoptar para contribuir al manejo seguro de ensayos de campo experimentales durante el período de crecimiento del cultivo.

2.2. PERSONAL

La persona a quien le ha sido otorgada una autorización para la realización del ensayo (la parte autorizada) deberá garantizar que todo el personal que tenga acceso o trabaje en el lugar durante el ciclo del cultivo, el período de cosecha y el de post cosecha esté adecuadamente capacitado. Esto significa que deben conocer sus responsabilidades en cuanto al confinamiento del ensayo, al mantenimiento de registros adecuados y sobre las acciones tomar en caso de producirse daños en el lugar del ensayo o una liberación accidental, teniendo presente quién es responsable de llevarlas adelante.

2.3. SIEMBRA DEL ENSAYO

2.3.1. Selección del lugar del ensayo

Al seleccionar la ubicación de los ensayos de campo de cultivos de plantas transgénicas se deben tener en cuenta múltiples consideraciones. En primer lugar, los responsables de los ensayos deben conocer los ecosistemas vecinos para hacer una evaluación de aspectos relativos a la seguridad ambiental. En segundo lugar, se debe examinar las reales posibilidades de mantener el aislamiento reproductivo; la localización y las dimensiones del lugar deben ser manejables para poder llevar acabo un monitoreo continuo del sitio. Tercero, se deben resolver consideraciones de largo plazo tal como las implicaciones de las restricciones post cosecha en el uso de la tierra. Cuarto, se deben tener en cuenta los impactos potenciales en los campos vecinos en el caso de una liberación accidental.

2.3.2. Demarcación del lugar del ensayo

Una vez seleccionado el lugar en que se llevará a cabo el ensayo, para identificar el lote tanto durante el período de crecimiento como en el de restricción post cosecha en el uso de la tierra, se procederá a señalizar sus cuatro esquinas con marcadores cuasi-permanentes (por ejemplo, postes de metal, PVC o fibra de vidrio). Una opción es registrar las distancias entre las cuatro esquinas del lugar y contar con ciertas referencias permanentes, tales como postes del teléfono o de electricidad, cercas, caminos o vías. Para el registro exacto de las cuatro esquinas del ensayo se tomarán las coordenadas del sistema de posicionamiento global (GPS).

2.3.3. Mapa del lugar del ensayo

Se incluirán los planos del ensayo. Los detalles a incluir en el mapa del ensayo, deben considerarse los siguientes elementos:

1. Nombre del responsable del ensayo y detalles para contactarlo.
2. Código de referencia para el o los ensayos dentro del lugar de realización del mismo.
3. Número de permiso del ensayo.
4. Caracterización legal o descriptiva del terreno.
5. Dimensiones exactas del lugar del ensayo.
6. Área total sembrada con el OGM, incluyendo bordes (m2 ó ha).
7. Distancias exactas a las señales permanentes o referencias cercanas como postes del teléfono, cercas, caminos o vías y/o coordenadas de GPS.
8. Identificación de todos los lotes dentro del perímetro de aislamiento, mencionando el nombre común del cultivo.
9. Fecha de siembra.
10. Puntos cardinales, con el Norte hacia la parte superior de la página.

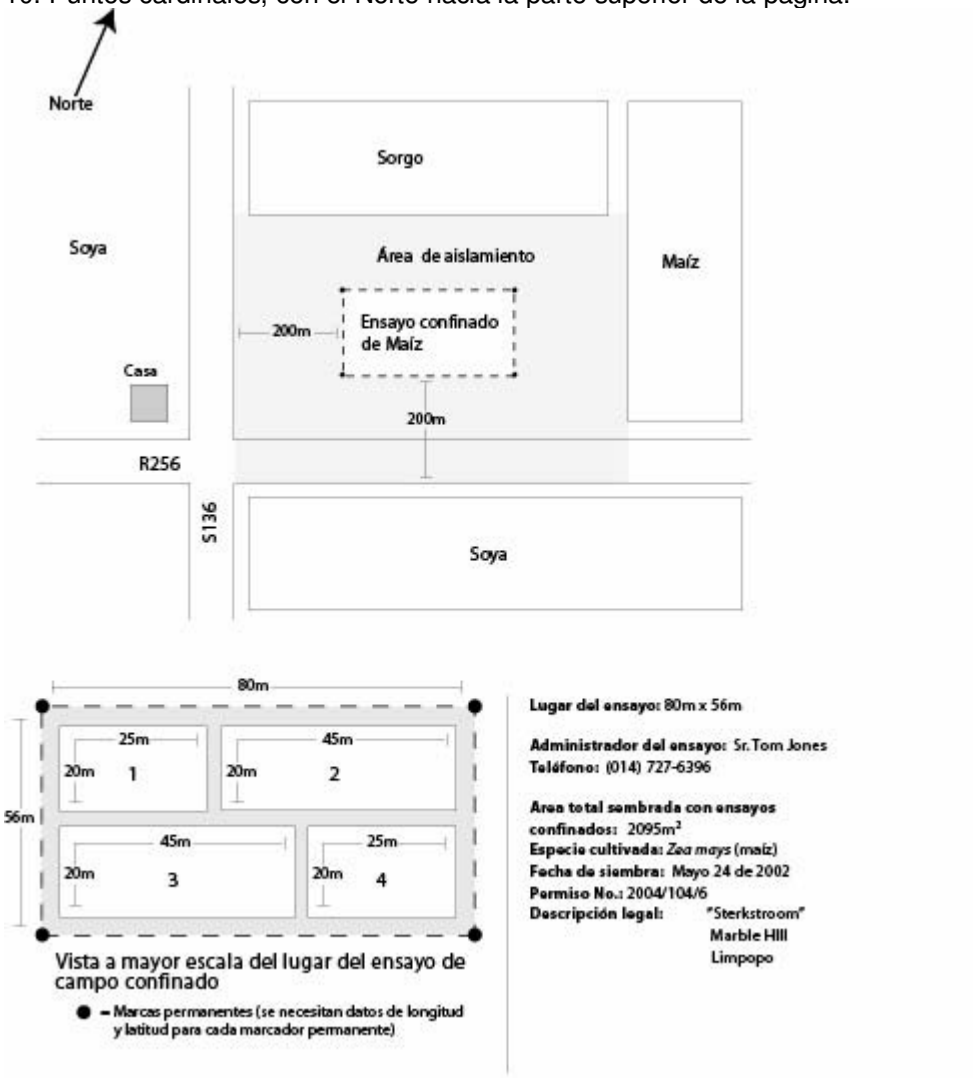


Figura 3. Ejemplo de un plano de lugar para el establecimiento de un ensayo de campo experimental.

2.3.4. Limpieza del equipo de campo

Antes de entrar al lugar del ensayo, el equipo utilizado para sembrar o plantar ensayos de campo confinados debe dejarse limpio de todo material vegetal, incluyendo semillas y cualquier material que pudiera haber quedado como consecuencia de las tareas realizadas con anterioridad. Igualmente, todos los equipos utilizados para sembrar o plantar el ensayo o los utilizados en las prácticas culturales deben ser limpiados en el lugar del ensayo para eliminar el traslado accidental y la liberación no intencional de material experimental. Los métodos de limpieza pueden incluir limpieza manual, con aire comprimido o con agua a alta presión.

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

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

2.4. AISLAMIENTO REPRODUCTIVO DE LOS ENSAYOS

2.4.1. Biología reproductiva de la especie en experimentación

Para establecer los medios más efectivos para lograr el aislamiento reproductivo de un ensayo de campo confinado, es necesario estar familiarizado con la biología de la especie vegetal y más específicamente con su biología reproductiva.

2.5. AISLAMIENTO REPRODUCTIVO DE LOS ENSAYOS. MÉTODOS

2.5.1. Aislamiento espacial

Los ensayos a campo con organismos vegetales genéticamente modificados pueden aislarse reproductivamente de otras plantas de la misma especie o de parientes sexualmente compatibles separándolos con una distancia mínima. Todas las plantas de la misma especie o de especies relacionadas presentes en la zona de aislamiento deben ser removidas antes de la antesis o de la formación de la semilla y tratarse de manera tal que resulten inviables.

2.5.2. Aislamiento temporal

Bajo ciertas condiciones ambientales, el aislamiento reproductivo de los lugares en los que se realizan los ensayos puede lograrse mediante el aislamiento temporal. Ello requiere escalonar la siembra del ensayo para que la liberación del polen se haya completado totalmente antes o después de la liberación del polen correspondiente de cualquier planta de la misma especie que pueda haberse cultivado dentro de la zona de aislamiento reproductivo. El aislamiento temporal se debe utilizar cautelosamente y no se recomienda en muchos ambientes por la variabilidad inherente a las condiciones de crecimiento que no hacen posible la predicción exacta del

momento de la antesis. Para que el aislamiento temporal sea efectivo, se debe contar con un sistema de monitoreo regular para asegurarse que la antesis del material experimental no sea concurrente con la de las plantas adyacentes de la misma especie que no son objeto del ensayo. Si la antesis de las plantas del ensayo y de las que no pertenecen al mismo resulta concurrente, se habrá presentado una transgresión del aislamiento reproductivo.

Cuando se ha producido una transgresión del aislamiento temporal y ya ha ocurrido la liberación del polen del material experimental genéticamente modificado, la parte autorizada debe ser notificada de inmediato para evaluar si es posible restablecer el confinamiento mediante aislamiento espacial.

2.5.4. Bordo

Los ensayos a campo de algunas especies como el algodón o la canola pueden aislarse reproductivamente de individuos de la misma especie o de especies relacionadas que crezcan en la zona de aislamiento sembrando en su perímetro un bordo ininterrumpido de especies vegetales convencionales. El ancho del bordo es específico según la especie. Comúnmente, la variedad convencional utilizada para sembrar en el bordo debe: 1) madurar al mismo tiempo que el evento transgénico; 2) ser sembrada a una densidad comparable a la del ensayo; y 3) ser manejada utilizando prácticas agronómicas comunes. Los responsables de los ensayos a campo deben monitorear estrechamente la emergencia de las hileras de los bordos y resembrarlos rápidamente si no resultó adecuado. Para que los bordos sean efectivos, se debe contar con un sistema de monitoreo frecuente que confirme que la antesis del material experimental y de las plantas del bordo son concurrentes.

Las hileras de plantas de los bordos suponen desafíos específicos para el manejo del ensayo tales como el traslado de los equipos y la forma en que se resolverá la situación que produce cuando la floración de la variedad sembrada en el bordo es asincrónica con relación a las plantas en el ensayo. Adicionalmente, si el material experimental expresa un carácter de tolerancia a herbicidas, no compartido con la variedad del bordo, se debe tener cuidado en garantizar que las hileras del bordo susceptible al herbicida no sean afectadas cuando se aplique el herbicida a las plantas del ensayo. Si el bordo no se mantiene según lo descrito y hay transgresión del aislamiento reproductivo, la parte autorizada debe ser notificada de inmediato para evaluar si se puede restablecer el confinamiento.

2.6. ACCIONES CORRECTIVAS EN EL CASO DE UNA LIBERACIÓN ACCIDENTAL

En el caso de una liberación accidental de material vegetal experimental durante la siembra o desde el lugar del ensayo, el incidente debe mantenerse bajo control y la persona a quien se otorgó el permiso (la parte autorizada) debe ser notificada de inmediato acerca de la situación. Si ya ha ocurrido una liberación accidental, la parte autorizada deberá asegurar la recuperación de la mayor cantidad posible del material experimental transgénico. El lugar de una liberación accidental debe ser marcado y manejado para asegurar que no haya liberaciones adicionales del material. Todas las acciones correctivas adoptadas para resolver una liberación accidental durante la siembra y desde el lugar del ensayo deben documentarse.

Después que la acción correctiva ha sido adoptada para resolver una cuestión de incumplimiento de la norma, la parte autorizada deberá llevar a cabo un análisis de la situación para identificar sus causas y luego determinar los cambios que sea necesario introducir en las prácticas de manejo o contar con personal adicional capacitado para garantizar que la situación no se reitere.

2.7. REGISTROS E INFORMES

Los responsables de los ensayos deben comprometerse a conservar completos, actualizados y bien organizados los documentos importantes para la siembra y manejo del ensayo, de manera

tal de garantizar una fácil recuperación de los registros. En la realización de una auditoría por parte de auditores internos o externos o de las autoridades regulatorias, la documentación puede ser solicitada y por consiguiente debe estar disponible para la revisión. El contenido y la calidad de estos materiales pueden ser empleados como elemento de juicio para evaluar si el ensayo ha alcanzado todos los requerimientos fijados por la regulación o pueden ayudar a demostrar la diligencia debida si surge algún interrogante o problema durante la ejecución del ensayo o durante una auditoría.
Se debe comenzar un programa regular de monitoreo en el momento de la siembra y continuarlo hasta la cosecha.

El monitoreo del ensayo ofrece además una oportunidad de observación y recolección de datos referentes a los materiales experimentales. Esto es de particular importancia para los investigadores que deseen presentar una solicitud de comercialización, pues el monitoreo de los impactos en organismos no blanco y plagas, y la susceptibilidad a enfermedades o el comportamiento anormal (por ejemplo, dormancia ampliada, morbilidad excesiva) es requerido para sustentar una evaluación ambiental del riesgo.

Todos los problemas, de carácter técnico o administrativo, relacionados con el cumplimiento, encontrados durante el ciclo del cultivo deben ser revisados. Al hacerlo, los responsables de los ensayos pueden mejorar su programa de gestión en forma continua, incorporando nuevas actividades sobre la base de la experiencia obtenida.

3. COSECHA Y DISPOSICIÓN FINAL DE MATERIALES DE ENSAYOS DE CAMPO CONFINADOS

3.1. INTRODUCCIÓN

La cosecha de ensayos de campo experimentales con organismos vegetales genéticamente modificados requiere ser realizada en forma cuidadosa. Los ensayos deben ser cosechados de tal manera que se evite la liberación accidental de eventos transgénicos así como su persistencia en el lugar del ensayo. Tampoco se permite que el material vegetal proveniente del ensayo sea introducido en la cadena alimentaria humana o animal sin la consulta y aprobación previas por parte de las autoridades sanitarias pertinentes. Este capítulo indica las prácticas a ser adoptadas para contribuir a una cosecha segura de los ensayos de campo experimentales.

3.2. RETENCIÓN DE MATERIAL VEGETAL COSECHADO DE LOS ENSAYOS DE CAMPO EXPERIMENTALES

Es bastante común que quien ha recibido un permiso de experimentación a campo (la parte autorizada) desee conservar material vegetal del lugar del ensayo. Es posible que la semilla sea necesaria para ensayos a realizar en el futuro o que los tejidos vegetales lo sean para análisis de laboratorio.

3.3. LIMPIEZA DEL EQUIPO

El equipo utilizado para cosechar ensayos a campo experimentales debe estar limpio de cualquier material vegetal antes de ingresar al lugar del ensayo, incluyendo semillas y material vegetal remanente de operaciones previas. Igualmente, todos los equipos utilizados para cosechar el ensayo deben ser limpiados en el sitio de ensayo para eliminar el transporte y la liberación accidental de material vegetal experimental. Los métodos de limpieza pueden incluir limpieza manual, con aire comprimido o con agua a alta presión.

El material vegetal residual recuperado durante el proceso de limpieza del equipo en el lugar del ensayo debe ser tratado para hacerlo inviable. Se podrán tener en cuenta métodos tales como el calor seco, vapor, trituración, incineración, entierro profundo o tratamiento con herbicidas y/o

productos químicos debidamente etiquetados.

3.4. FINALIZACIÓN ANTICIPADA DE LOS ENSAYOS

En algunas circunstancias se puede dar por terminado un ensayo antes de la fecha prevista para su cosecha, por ejemplo debido a condiciones ambientales desfavorables (como, granizo, sequías, huracanes) o debido a consideraciones relacionadas con el cumplimiento de las condiciones establecidas en el permiso. Los ensayos que deben darse por finalizados en forma temprana serán destruidos antes de formen su semilla y luego serán enterrados con maquinaria o tratados con herbicidas debidamente etiquetados, para proceder así a la disposición final del material vegetal. Inmediatamente luego de finalizado el ensayo se implementarán las condiciones post cosecha.

3.5. DISPOSICIÓN FINAL DEL MATERIAL VEGETAL DEL ENSAYO

El material vegetal de un ensayo que no sea conservado para fines de investigación, tal como los granos, las raíces, los tallos o las hojas, deben tratarse para hacerlos inviables por un medio aceptable para la autoridad regulatoria. Se podrán tener en cuenta métodos tales incineración, entierro profundo o tratamiento con herbicidas y/o productos químicos debidamente etiquetados. Esto aplica tanto para las plantas del ensayo como para las de las hileras de los bordos utilizadas como aislamiento reproductivo. Cuando se remueva material del sitio de ensayo hacia una instalación, para su análisis, almacenamiento o disposición final inmediata (por ejemplo, incineración, autoclave), se garantizará que el material sea transportado adecuadamente.

3.6. TRANSPORTE DE MATERIALES COSECHADOS DESDE EL SITIO DEL ENSAYO

Cuando el material vegetal cosechado es transportado desde el lugar en que se realizó el ensayo hacia una instalación en particular, ello debe realizarse de manera tal de prevenir cualquier liberación accidental.

3.7. MONITOREO DE LA COSECHA DEL ENSAYO

El responsable del ensayo o quien él designe deberá monitorear la cosecha para asegurar que:

1. El material que va a ser conservado no se mezclará inadvertidamente con otro material vegetal durante la cosecha.
2. El material a ser removido del sitio de ensayo será etiquetado adecuadamente en forma previa al transporte,
3. Todo el material vegetal remanente se tratará de modo tal que resulte inviable y se procederá a su disposición final en el lugar en que se desarrolló el ensayo.
4. La cosechadora se dejará limpia, libre de todo material vegetal experimental antes de abandonar el lugar del ensayo.

3.8. ACCIONES CORRECTIVAS EN EL CASO DE UNA LIBERACIÓN ACCIDENTAL

Si durante la cosecha se produjera una liberación accidental de material vegetal experimental, el incidente será puesto bajo control y la persona a quien se otorgó el permiso (la parte autorizada) debe ser notificada de inmediato acerca de la situación. Si ya ha ocurrido una liberación accidental, la parte autorizada deberá asegurar la recuperación de la mayor cantidad posible del material experimental transgénico. El lugar de una liberación accidental debe ser marcado y manejado para asegurar que no haya liberaciones adicionales del material. Todas las acciones correctivas adoptadas para resolver una liberación accidental durante la cosecha y la disposición final deben documentarse. Después que la acción correctiva ha sido adoptada para resolver una cuestión relativa al incumplimiento de la norma, la parte autorizada llevará a cabo un análisis de la situación para identificar sus causas y luego determinar los cambios que sean necesarios en las prácticas de manejo o contar con personal adicional capacitado para

garantizar que la situación no se repita.

3.9. REGISTROS E INFORMES

El responsable del ensayo deberá registrar y conservar la información relativa a las actividades relacionadas con la cosecha o con la finalización de un ensayo.

4. MANEJO DEL LUGAR DEL ENSAYO DESPUÉS DE LA COSECHA

4.1. INTRODUCCIÓN

Estas medidas están diseñadas para garantizar que cualquier planta voluntaria que crezca después de la cosecha será eliminada del lugar en el cual el ensayo se desarrolló. Todo ello con el propósito de prevenir el establecimiento del material transgénico en experimentación, y garantizar que no ingrese material proveniente del mismo en los procesos vinculados con la cadena alimentaria humana o animal, sin la consulta previa con las autoridades regulatorias. Este capítulo indica las prácticas a realizar para contribuir al manejo seguro de ensayos de campo experimentales luego de la cosecha.

4.2. RESTRICCIONES POST COSECHA

Los lugares en los que se realizan ensayos de campo experientales usualmente son sujeto de restricciones de uso, según el cultivo en cuestión. El periodo post cosecha comienza inmediatamente después de la cosecha o de la finalización del ensayo por cualquier motivo que sea.

Durante el periodo post cosecha, todas las plantas prohibidas (incluye a las voluntarias de los eventos transgénicos en experimentación y a cualquier pariente sexualmente compatible) deben ser removidas del lugar en el cual se desarrolló el ensayo antes de la antesis. Es necesario emplear algún método que haga que estas plantas sean inviables y proceder luego a su disposición final; un método común es eliminar las plantas prohibidas y luego quemarlas o enterrarlas en el sitio en el cual tuvo lugar el ensayo.

4.3 MONITOREO POSTCOSECHA DEL LUGAR DEL ENSAYO

El monitoreo del lugar del ensayo (y de la distancia de aislamiento cuando se requiera) durante el período post cosecha debe comenzar tan pronto se coseche o termine el ensayo y debe continuar durante el periodo establecido, cuando las condiciones sean favorables para la germinación y crecimiento de plantas voluntarias. El responsable del ensayo, o quien él designe, deberá monitorear frecuentemente el sitio en el cual se hizo el ensayo para garantizar que las plantas prohibidas no aparezcan.

4.4. ACCIONES CORRECTIVAS EN EL CASO DE UNA LIBERACIÓN ACCIDENTAL

Si se produjera una liberación accidental del material vegetal en experimentación en el sitio en el cual tuvo lugar el ensayo (período posterior a la cosecha), el incidente deberá ser puesto bajo control y la persona a quien le fuera otorgado un permiso (la parte autorizada) deberá ser notificada de inmediato acerca de la situación. Si ya ha ocurrido una liberación accidental, la parte autorizada deberá asegurar la recuperación de la mayor cantidad posible del material experimental transgénico. El lugar de una liberación accidental debe ser marcado y manejado para asegurar que no haya liberaciones adicionales del material. Todas las acciones correctivas adoptadas para resolver una liberación accidental durante el manejo post-cosecha deben documentarse. Después que la acción correctiva ha sido adoptada para resolver una infracción, la parte autorizada deberá llevar a cabo un análisis de la situación para identificar sus causas y luego determinar los cambios que sean necesarios en las prácticas de manejo o contar con personal adicional capacitado para garantizar que la situación no se repita.

4.5. REGISTROS E INFORMES

El responsable del ensayo deberá registrar y conservar la información relativa a las actividades relacionadas con el monitoreo post cosecha del lugar en que se llevó a cabo un ensayo.

ANEXO XIII. Currículos de las personas responsables de las evaluaciones de campo

LEONEL AVILES MORALES

Domicilio: Av de las gladiolas 4135 Res. Molino de Flores.
Culiacán, Sinaloa.

Telefonos:

Part. (52) (667) 1738083

Mobil (52) (667) 7512234

E-mail: lavilesmorales@dow.com

DATOS PERSONALES

Fecha de nacimiento: 07 de Diciembre de 1972

Lugar de Nacimiento: Costa Rica, Culiacan. Sinaloa.

Estado civil: Casado con Yolanda Moreno de Avilés
Dos Hijos : María Fernanda y Leonel.

ESTUDIOS PROFESIONALES

1990-95.- Ingenieria Agronómica con especialidad en Parasitología en la Facultad de Agronomia de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

DESARROLLO PROFESIONAL

1995-actualidad.- Desarrollo de diversas moleculas insecticidas y fumigantes de suelo dentro del departamento de Investigación de Dow AgroSciences de México a través de todas las regiones horticolas importantes del país y el extrangero.

LOGROS OBTENIDOS:

- Caracterización de diversos insecticidas y Fumigantes de suelo que actualmente se encuentran en el mercado como productos lideres de ventas contribuyendo esto en un incremento directo de aportaciones por ventas de dichos productos a la empresa. así como moleculas experimentales.

- Establecimiento de relaciones con las compañias Horticolas mas importantes de El Bajío, Sinaloa; Sonora y BC, así como con los productores de melón mas representativos del país ubicados en Tierra Caliente Gro, y Colima; incrementando así la presencia de DAS de manera importante.

- Brindar asistencia técnica puntual dentro del mercado de hortalizas en el rubro de agroquímicos y fumigantes de suelo, además de promover el uso adecuado de los pesticidas.

DESARROLLO PROFESIONAL

- Ganador en grupo del "Global Excellent Technology award 2003" por desarrollar un equipo de aplicación a través del sistema de riego por goteo con el cual el ahorro de la compañía fue de $85MM USD solo por concepto de muestra experimental, además de un incremento significativo en la consistencia de los resultados en los experimentos desarrollados en ese proyecto.

- Sabatico de 4 meses en Fowler IN en el Midwest Research Center de DAS en donde se caracterizaron fungicidas en hortalizasn herbicidas en maíz así como colaboración en experimentos de biotecnología con maices GMO´s.

- Ganador del "Product technology Innovation Award 2005" por rápido desarrollo de Lorsban 75WG para el control de Psillido del tomate.

FORMACIÓN PERSONAL (ENTRENAMIENTOS)

1990-95.- Soporte técnico dentro del programa de entomología de Hortalizas en el centro de Investigaciones del Valle de Culiacán dentro del INIFAP a cargo del M.C Mayra C. Avilés Gonzalez.

LOGROS OBTENIDOS:

- Obtención de conocimiento de los problemas fitosanitarios de las Hortalizas.

- Conocimiento de los principales metódos estadísticos para el establecimiento y análisis de diseños esperimentales en estudios de efectividad biologica para insectos y patógenos del suelo.

- Participación en estudios de desarrollo fenológico y distribución de plagas en Tomate.

- Coordinador de ensayos con algodones Trangénicos en Sonora, Tamaulipas y La Laguna realizados por INIFAP en los ciclos 2005-06 y 2006-07.

- Negociaciones efectivas

- Trabajo en equipo

- Perfiles sociales

- Time management tranning

- 7 habitos de la gente altamente efectiva

- Manejo de la Inteligencia emosional

- Estadistica aplicada

- Product Stewarship

- Cursos del idioma Ingles

- Diversos cursos de manejo defensivo

- Etica laboral

Entre otros, asi como la participación con exposiciones en diferentes cursos, talleres y simposium en el país y el extranjero.

Gary D. Thompson, Ph.D
Brief Biography 2008

Gary Thompson is currently serving as a Global Product Development leader for the Crops Business of Dow AgroSciences a wholly owned subsidiary of Dow Chemical Company at the global headquarters in Indianapolis, Indiana. In this position he supports biology solutions for the Plant Genetics and Biotechnology division with a main focus on insect traits and seed treatments. He has been in this position for five years and provides oversight and support for projects in the U.S., Canada, Mexico, Columbia, Brazil, Argentina, several European countries, the Philippines and India. Prior to joining the biotechnology division he did discovery and global development for spinosad which has become a leading insecticide with registrations in over 50 countries. He is a leading authority on resistance management in insects and is the past chair of the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) International and the U.S. committee. In addition to his 27 years of experience in Industry he worked on entomological research in Universities and has over 50 refereed publications. He received a Ph.D. in Entomology with a minor in genetics from Texas A&M University, a M.S. in Entomology from the University of Arkansas and a B.S. in Zoology from the University of Arkansas.

MS. Juan Carlos Martínez Nicolás

Datos de contacto:

PHI Servicios SA de CV
Carr. Guadalajara-Morelis Km. 21 No. 8601-B
Poblado de Nicolás R. Casillas
Tlajomulco de Zúñiga, Jal. 45645
Tel. 01(33) 3679-7979 Ext. 263 Fax. 01(33) 3679-7900
E-mail: juan.martinez@pioneer.com

Desarrollo Profesional:

Ocupación actual:
Senior Regulatory Associate. Pioneer International Hi-Bred. A cargo de procesos de regulación en México y Latinoamérica Norte

Empleo Anterior:
Asistente de Investigación. Centro de Transformación de Plantas. Universidad Estatal de Iowa. Estados Unidos de América.

Educación:

Maestria en Ciencias con especialidad en mejoramiento genético vegetal a través de transformación genética por la Universidad Estatal de Iowa, Estados Unidos de América

Ingeniero Agrónomo especialista en Fitotecnia por la Universidad Autónoma Chapingo

Perfil Profesional

Conocimientos de Agronomía e ingeniería genética, he trabajado en marcadores moleculares en fríjol común durante la licenciatura. Tengo experiencia en transformación genética de bacterias, arabidopsis, soya y maíz. El título de mi tesis de maestría fue: Establishment of Transformation Systems Using Inbred-Maize Mature Seeds. Recién este año me uní al equipo de regulación de Pioner Hi Bred Internacional en donde estoy a cargo de procesos regulatorios de OGM´s en México y en varios países de América Latina Norte, así como del registro y protección varietal de los materiales vegetales generados entre otras cosas.