PHI MÉXICO SA DE CV

INFORMACIÓN NO CONFIDENCIAL

Solicitud de Liberación Experimental al Ambiente de Maíz Genéticamente Modificado con el Evento

DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ81Ø-6 x MON-ØØ6Ø3-6

Estación Experimental Puerto Vallarta (NRSP), Estado de Nayarit.

Para la Protección Contra Algunos Insectos Lepidópteros y tolerancia a herbicidas con el ingrediente activo Glifosato.

Abril 2011

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

I. Nombre, denominación o razón social del promovente y, en su caso, nombre del representante legal;

Promoventes:

PHI México S.A. de C.V.

Representantes legales:

Dr. Rodolfo Gustavo Gómez Luengo
Gerente de Biotecnología y Regulación Latinoamérica
PHI México S.A. de C.V.

Ver documento notarial que acredita las representaciones legales (Anexo XI).

II. Domicilio para oír y recibir notificaciones, así como el nombre de la persona o personas autorizadas para recibirlas;

Dr. Rodolfo Gustavo Gómez Luengo
Gerente de Biotecnología y Regulación Latinoamérica
PHI México, S.A. de C.V.
Carr. Guadalajara-Morelia, KM 21 8601-A
Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco.
CP. 45645. Tel. (33) 3679-7979
rodolfo.gomez@pioneer.com

M.C. 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

M.C. Enrique Campos
Gerente de Investigación NRSP
PHI México, S.A. de C.V.
Centro de Investigación Puerto Vallarta
Camino Viejo a Valle de Banderas Km. 3 num. 19
Santa Rosa Tapachula, Nayarit C.P. 63731
Tel. (329) 291 0090 ext. 103
enrique.campos@pioneer.com

Ing. Lizeth Felix Valdez
Asociado de investigacion Regulación
PHI México, S.A. de C.V.
Centro de Investigación Puerto Vallarta
Camino Viejo a Valle de Banderas Km. 3 num. 19
Santa Rosa Tapachula, Nayarit C.P. 63731
Tel. (329) 291 0090 ext. 110
lizeth.felix@pioneer.com

IV. Modalidad de la liberación solicitada y las razones que dan motivo a la petición;

Con fundamento en los Artículos 42, 43, 70 y 71 de la (LBOGM), y Artículos 5, 6 ,7 y 16 del Reglamento de la LBOGM se presenta la Solicitud de Liberación Experimental al Ambiente para maíz genéticamente modificado DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ81Ø-6 x MON-ØØ6Ø3-6 en la Estación Experimental Puerto Vallarta (NRSP), Estado de Nayarit durante los años 2011 y 2012.

La presente Solicitud de Liberación Experimental al Ambiente tiene los siguientes objetivos:

Generar datos que permitan estimar si la modificación genética del evento DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ81Ø-6 x MON-ØØ6Ø3-6 *ha alterado la equivalencia agronómica en comparación con su control no modificado.*

Demostrar que los ensayos con maíz GM se pueden conducir de manera segura en México mediante la aplicación de las medidas de bioseguridad propuestas por la empresa y las que establezcan las autoridades competentes.

V. Señalar el órgano de la Secretaría competente, al que se dirige la solicitud;

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA).

VI. Lugar y fecha;

Guadalajara, Jalisco; Abril del 2011.

VII. Firma del interesado o del representante legal, o en su caso, huella digital.

Ver escrito libre.

I) CARACTERIZACIÓN DEL OGM

a) Identificador único del evento de transformación.

Nombre científico: *Zea mays* L.
Nombre común: Maíz
Nombre comercial: HX1xYGxRR2
Identificador único de la OCDE: DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ81Ø-6 x MON-ØØ6Ø3-6

El maíz DAS-01507-1 (1507) fue generado por la inserción de un gen *cry*1F sintético truncado de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) var*. aizawai* y un gen para fosfinotricina acetiltransferasa (*pat*) aislado de *Streptomyces viridochromagenes*. La proteína Cry1F confiere resistencia a algunos insectos lepidópteros. La proteína PAT confiere tolerancia al ingrediente activo glufosinato de amonio.

El maíz MON-00810-6 (MON810) fue generado por la inserción del gen *cry*1Ab, el cual fue aislado de *Bacillus thuringiensis.* La proteína Cry1Ab confiere resistencia a algunos insectos lepidópteros.

El maíz MON-00603-6 (NK603) fue generado por la inserción de dos copias del gen *cp4 epsps* que codifica para la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) de *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4. La proteína CP4 EPSPS confiere tolerancia a los herbicidas con el ingrediente activo glifosato.

El maíz con los eventos apilados DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ81Ø-6 x MON-ØØ6Ø3-6, es un híbrido Pioneer™ resultante del cruce convencional de las líneas de maíz DAS-Ø15Ø7-1 y MON-ØØ81Ø-6 con resistencia a algunos insectos lepidópteros y la línea MON-ØØ6Ø3-6 con tolerancia a herbicidas con el ingrediente activo glifosato.

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 género *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 algunas zonas del 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 polinice 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= ◯ 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.

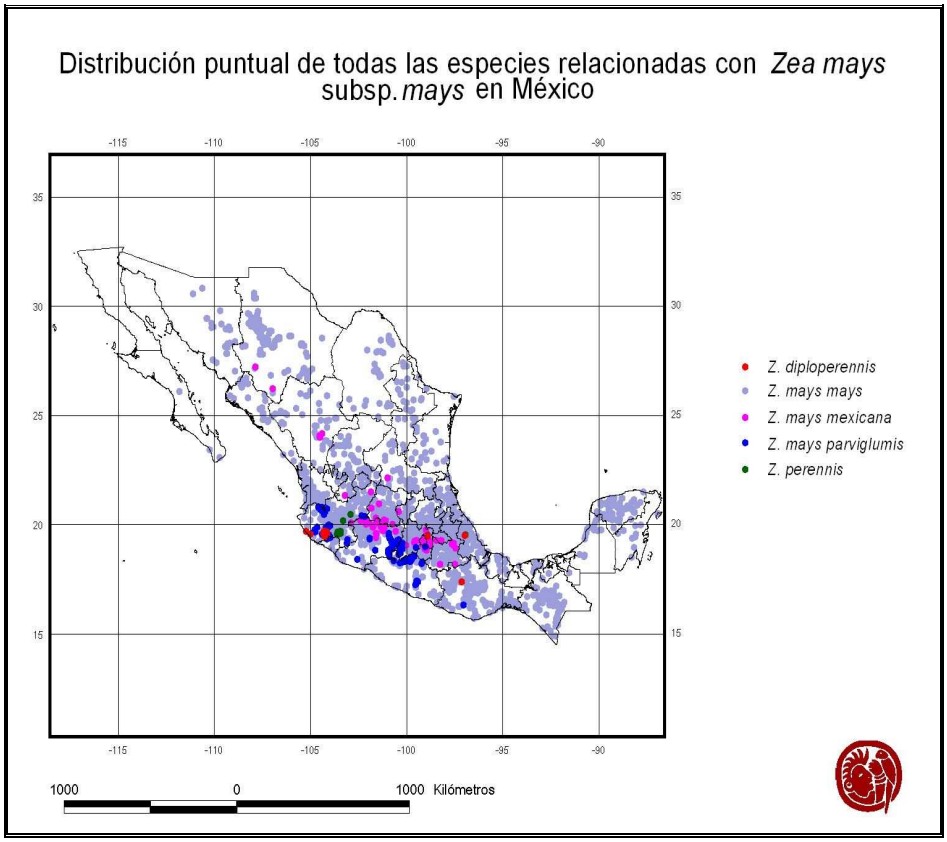


Figura 1. Distribución Puntual de todas las especies relacionadas con *Zea mays* subsp *mays* en México.

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

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

Sólo *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 cierto 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 originario 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.

Cruzamiento con el maíz cultivado: Durante las épocas de siembra, es probable que otras compañías semilleras o agricultores siembren maíz en los alrededores de los sitios, existiendo la posibilidad de entrecruzamiento. Sin embargo, debido a todas las medidas de bioseguridad que se utilizarán en los experimentos, se eliminará la posibilidad de transferencia de material genético de los ensayos propuestos a campos de agricultores locales.

Cruzamiento con especies silvestres: El género *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* ssp, 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. Existen otros teocintles silvestres: *Zea luxurians* y *Z. mays* spp. Huehuetenangensis. Todos los teocintles, con excepción del tetraploide *Z. perennis*, pueden cruzarse con el maíz para formar híbridos fértiles (Wilkes, 1977; Doebley, 1990). Sin embargo, estudios recientes indican que la dirección de la polinización en su gran mayoría es del teocintle (ssp. mexicana) hacia el maíz (Baltazar et al, 2005), debido a la presencia de barreras genéticas de incompatibilidad (Evans and Kermicle, 2001) y factores físicos en las plantas de teocintle los cuales no permiten que el polen del maíz polinice los estigmas del teocintle (Baltazar and Schoper, 2001 y 2002; Baltazar et al., 2003). Otro pariente cercano al genero *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.

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

<u>Organismo receptor</u>

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

<u>Organismos donadores</u>

Agrobacterium tumefaciens
Agrobacterium tumefaciens Cepa CP4.
Arabidopsis thaliana
Bacillus thuringiensis var. *aizawai*
Bacillus thuringiensis subsp. *kurstaki*
Streptomyces viridochromogenes

Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV)
Zea mays L.

Tabla 2. Clasificación Taxonómica de organismos donantes de genes

Clasificación	**Plantas donadoras de genes**	
Nombre común	**Maíz**	**Arabidopsis**
Reino:	Plantae	Plantae
División:	Magnoliophyta	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida	Magnoliopsida
Subclase:	Commelinidae	Dilleniidae
Orden:	Poales	Capparales
Familia:	Poaceae	Brassicaceae
Subfamilia:	Panicoideae	
Tribu:	Andropogoneae	
Género:	*Zea*	*Arabidopsis Heynh*
Especie:	*Z. mays*	*A. thaliana* (L.) Heynh
Nombre Binomial	*Zea mays*	*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh

Tabla 2. Clasificación Taxonómica de organismos donantes de genes (cont.)

Clasificación	**Microorganismos Donadores de Genes**			
Nombre común	*Bacillus thuringiensis*	*Streptomyces viridochromogenes*	*Agrobacterium tumefaciens*	Virus del mosaico de la coliflor
Reino:	Eubacteria	Bacteria	Bacteria	---
Filo:	Firmicutes	Actinobacteria	Proteobacteria	---
Clase:	Bacilli	---	Proteobacteria alfa	---
Orden:	Bacillales	Actinomycetales	Rhizobiales	---
Familia:	Bacillaceae	Streptomycetaceae	Rhizobiaceae	*Caulimoviridae*
Género:	*Bacillus*	*Streptomyces*	*Agrobacterium*	*Caulimovirus*
Especie:	*B. thuringiensis*	*S. viridochromogenes*	*A. tumefaciens*	Virus del mosaico de la coliflor
Nombre Binomial	*Bacillus thuringiensis*	*Streptomyces viridochromogenes*	*Agrobacterium tumefaciens*	Virus del mosaico de la coliflor

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

La línea parental DAS-01507-1 fue desarrollada por Pioneer Hi-Bred International (7100 NW 62nd Ave. P.O. Box 1014, Johnston, I.A. U.S.A.); y las líneas parentales MON-00810-6 y MON-00603-6 fueron desarrolladas por Monsanto Company (USA). La línea apilada DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 fue desarrollada por Pioneer Hi-Bred International a través de métodos tradicionales de cruzamiento de las líneas parentales.

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 .

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.

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.

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).

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

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

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.

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

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

Mapa de la construcción genética

EVENTO DAS-01507-1

Ver Mapa esquemático de la inserción PHP8999 (Figura 4)

Tipo de herencia de los caracteres producto de los genes insertados

Mediante análisis PCR evento-específico se demostró que las inserciones de ADN del maíz 1507, MON810 y NK603 son estables durante el proceso de cruza, y que el maíz apilado 1507xMON810xNK603 es resultado de la cruza satisfactoria de esas líneas. El análisis Southern blot permitió verificar la equivalencia de las tres inserciones individuales en el maíz 1507xMON810xNK603.

Los análisis de segregación mendeliana para los eventos NK603 y MON810 se encuentran en el compendio de información que Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las autoridades competentes, y al cual se ha dado autorización de acceso mediante el oficio presentado el en anexo XIII. A continuación se presenta el análisis de segregación mendeliana del evento 1507:

Los resultados del análisis de la segregación Mendeliana proporcionan evidencias de la herencia estable del material genético introducido. La segregación Mendeliana de la línea *Bt* Cry1F 1507 fue realizada y analizada en dos etapas (ver Figura 11). La línea de maíz Hi-II original transformada conteniendo el evento TC 1507, fue cruzada con una línea homocigota elite para producir la semilla F1. La semilla F1 fue retrocruzada a la línea homozigota dos veces mas para producir la semilla BC2F1. La aplicación del herbicida glufosinato en cada generación ayudo a eliminar las plantas susceptibles y obtener semilla homocigota.

Fue sembrada la semilla de la generación BC2F1, y se le aplico glufosinato. La segregación esperada fue de 1:1 (resistente: susceptible) para tolerancia a glufosinato. En la Tabla 6 se ilustran los resultados de la línea BC2F1.

A continuación se describe la segregación en generaciones subsecuentes: después de tres retrocruzas, semilla de la línea *Bt* Cry1F 1507 (BC3F1) que fue sembrada y polinizada. Se espera que la semilla resultante (BC3F2) contenga 3 partes resistentes y una parte susceptible. Luego, fue sembrada y asperjada con glufosinato para remover las plantas homocigotas susceptibles. Las plantas remanentes (una parte homocigota resistente y dos partes heterozigotas resistentes) fueron cruzadas a una línea susceptible para hacer la semilla F1. Esta semilla fue sembrada y asperjada con glufosinato para confirmar la segregación esperada, 2:1 resistente: susceptible. Los resultados de la línea F1 se presentan en la Tabla 6.

Después de que los híbridos fueron asperjados con glufosinato y de registrar su resistencia, 200 larvas del gusano barrenador Europeo fueron utilizadas para infestar cada planta F1 sobreviviente a la aspersión del glufosinato. Todas las plantas que mostraron tolerancia al herbicida glufosinato fueron también resistentes al ataque del gusano barrenador Europeo. Estos resultados indican que el evento TC 1507 es una inserción estable y es heredada en forma Mendeliana como un gen dominante. Los resultados de los análisis Southern indicando que el gen parcial *cry*1F esta presente en plantas de la retrocruza BC4, apoya la conclusión que esta genéticamente 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.

Tabla 3. Segregación Mendeliana de la línea *Bt* Cry1F-1507. *(Información confidencial)*

Generación	Relación observada[1]	Relación Esperada	X^2	Valor -p	Diferencia Significativa[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 las proteínas y su localización

Gen *cry1*F

El gen *cry*1F codifica para la síntesis de la proteína Cry1F, que actúa por unión selectiva a los sitios específicos localizados en el revestimiento del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Posterior a la unión, se forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio, causando parálisis intestinal y finalmente la muerte por septicemia bacteriana. Cry1F es letal sólo cuando es consumida por las larvas de algunos insectos lepidópteros y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos objetivo. No hay sitios de unión para para delta-endotoxinas de *B. thuringiensis* en la superficie de las células intestinales de mamíferos, por lo tanto, el ganado y los seres humanos no son susceptibles a estas proteínas.

Ver localización del gen *cry*1F en el mapa de la inserción en la Figura 4.

Gen *pat*

La proteína fosfonitrocina acetiltransferasa (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).

Ver localización del gen *pat* en el mapa de la inserción en la Figura 2.

Gen *cry*1Ab

El gen *cry*1Ab produce una versión truncada de la proteína insecticida, Cry1Ab, derivada del *Bacillus thuringiensis*. Delta-endotoxinas, como la proteína Cry1Ab expresada en MON810, actuan de forma selectiva la unión a sitios específicos localizados en el epitelio del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Trasla unión, cationes específicos forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio y por tanto causa parálisis y la muerte del insecto. La proteína Cry1Ab es insecticida sólo con algunos insectos lepidópteros, y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos blanco.*

La localización del gen cry1Ab se encuentran en el compendio de información que Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las autoridades competentes, y al cual se ha dado autorización de acceso mediante el oficio presentado el en anexo XIII.

Gen *cp4 epsps*

El gen codifica para una forma tolerante a glifosato de la enzima 5-sintasa enolpyruvlyshikimate-3-fosfato (EPSPS) que fue aislado de la bacteria del suelo *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4. El glifosato se une específicamente al la enzima EPSPS y la inactiva; la enzima EPSPS participa en la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos tirosina, fenilalanina y triptófano, y está presente en todas las plantas, bacterias y hongos.*

La localización del gen *cp4 epsps* se encuentran en el compendio de información que Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las autoridades competentes, y al cual se ha dado autorización de acceso mediante el oficio presentado el en anexo XIII.

*CERA. (2010). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database

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

EVENTO DAS-01507-1

El gen cry1a2, aislado de la bacteria común del suelo *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) var. *aizawai,* produce la proteína insecticida Cry1F, una delta-endotoxina. De las proteínas Cry, solo Cry1F actúa por unión selectiva a los sitios específicos localizados en el revestimiento del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Posterior a la unión, se forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio, causando parálisis intestinal y finalmente la muerte por septicemia bacteriana. Cry1F es letal sólo cuando es consumida por las larvas de algunos insectos lepidópteros y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos blanco. No hay sitios de unión para para delta-endotoxinas de *B. thuringiensis* en la superficie de las células intestinales de mamíferos, por lo tanto, el ganado y los seres humanos no son susceptibles a estas proteínas.

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, esta clase 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 oligomeriza produciendo orificios pequeños en las células de la membrana del intestino medio provocando que las células se rompan ocasionando la muerte del insecto.

La parte terminal, de las δ-endotoxinas Cry1F, resistente a las proteasas se compone de tres estructuras (Grochulski *et al*., 1995). La estructura 1, formadora de poros, consiste de un grupo de siete hélices-α anti paralelas en las cuales la hélice 5 se encuentra encerrada por el resto de las hélices; la estructura 2, consiste de tres hojas-β antiparalelas unidas en un tipo de "llave griega", los espirales provenientes de la estructura 2, son responsables de unir o ligar los receptores en el insecto con las toxinas (Tabashnik *et al.* 1996). La estructura 3, es un sándwich-β formado de dos hojas antiparalelas-β. Esta estructura es responsable de estabilizar la toxina y estudios recientes indican que la estructura 3 también esta relacionada con la unión o atracción de la toxina con los receptores presentes en el sistema digestivo del insecto. (De Maagd *et al.* 1996; Lee *et al.* 1995; Bosch *et al.* 1994).

La fosfinotricina, el ingrediente activo del herbicida glufosinato de amonio, inhibe la enzima glutamina sintetasa de la planta, lo que resulta en la acumulación de los niveles letales de amoníaco en las plantas sensibles dentro de las horas de aplicación. Cabe mencionar que el amoníaco es producido por las plantas como resultado de procesos metabólicos normales (CFIA, Oct 2002)

Se ha reportado que la proteína PAT muestra una muy alta especificidad de sustrato contra el L-glufosinato, el ingrediente activo del herbicida glufosinato de amonio, sin embargo no selecciona por sustrato al D-glufosinato, un isómero óptico del L-glufosinato. Por consiguiente, ni las proteínas Cry ni las proteínas PAT interfieren en las rutas metabólicas del organismo receptor.

El gen de tolerancia al glufosinato de amonio insertado en el maíz con la línea 1507xMON810xNK603 codifica para la enzima fosfinotricina acetiltransferasa (PAT). Esta enzima desintoxica la fosfinotricina por acetilación en un compuesto inactivo. La fosfinotricina acetiltransferasa tiene una alta especificidad de sustrato y los datos incluidos en la solicitud demuestran que no acetilan otras enzimas o proteínas.

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

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

EVENTO DAS-01507-1

Cry1F

Se determinó la dependencia del tiempo en la pérdida de la biodisponibilidad de la proteína tras la incorporación de la proteína Cry1F en un suelo típico para el cultivo de maíz, ésta fue determinada bajo condiciones de laboratorio (Halliday, 1998). Los resultados de este estudio indican que cuando la proteína Cry1F se aplica al suelo muestra una disminución 20 veces mayor en la actividad biológica dentro de los 28 días de periodo de prueba. La estimación de la DT_{50} fue 3.13 días.

La proteína Cry1F ha mostrado que se degrada fácilmente en el medio ambiente. Se encontró en los experimentos de degradación de la proteína Cry1F en los suelos, que tiene un valor de DT50 (tiempo para degradar el 50% de las propiedades insecticidas originales), de 3.13 días. Las proteínas alergénicas son normalmente resistentes a la digestión y el tratamiento térmico, a diferencia de la proteína Cry1F que ha demostrado que se degrada fácilmente en el fluido gástrico simulado (digerido dentro de 1 minuto a una proporción molar de 1:100 Cry1F: pepsina), y se desactiva después de la exposición a 75°C durante 30 minutos (CFIA, Oct 2002).

Se realizó un estudio adicional para investigar el potencial de digestión de la proteína Cry1F bajo condiciones simuladas gastrointestinales (Evans, 1998). La digestibilidad del material se determinó usando el método *in vitro* gastrointestinal en vertebrados, mediante exposición de la proteína en concentraciones que oscilaron de 1:1 pepsina: Cry1F a 1:1,000,000 pepsina:Cry1F. Convertido a molaridad, este corresponde a rangos de 1:2 a 1:1, 883,000, respectivamente. A molalidades de 1:100, una proteolisis completa de la proteína Cry1F ocurre dentro de cinco minutos. La proteína Cry1F fue proteolizada a aminoácidos y péptidos pequeños. Se puede concluir con estos resultados que la proteína Cry1F es muy susceptible a la digestión en condiciones gástricas simuladas en la presencia de pepsina.

Producción de aleloquímicos

Con la intención de descartar la posible producción de cualquier nuevo aleloquímico en el maíz con la línea 1507 que puedan ser secretadas de las raíces y tener un efecto adverso en el entorno de plantas, fue cultivada lechuga en el suelo residual utilizado en los campos de pruebas aislados para el cultivo del maíz con la línea 1507 y maíz no recombinante, en donde se examinaron la tasa de germinación y el crecimiento. Como resultado de ello, para la tasa de germinación, en los dos híbridos examinados, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre las parcelas de las tierras plantadas con la recombinante y la no-recombinante. Para el peso fresco de las lechugas, en una variedad, se observó una diferencia significativa ($p = 0,033$) (parcela recombinante: 0.63g, la parcela no-recombinante: 0.43g). Sin embargo, basándonos en el hecho de que no se observó diferencia significativa de la tasa de germinación, el crecimiento de la lechuga en la parcela recombinante no era necesariamente lenta o insuficiente, y no se observó diferencia significativa en la otra variedad, por lo tanto se consideró que el gen introducido no causa la producción de cualquier sustancia nociva inesperada. Para su confirmación, se realizó la prueba sobre la base del método de Sandwich para identificar los efectos de las raíces de maíz con la línea 1507 y el maíz no-recombinante en la tasa de germinación, la longitud de la radícula, y la longitud de hipocotilo de la lechuga. Como resultado, en todos los elementos examinados, se observó que no hay diferencia estadísticamente significativa entre el recombinante y el no-recombinante (JBCH, 2002).

Basándose en los resultados descritos anteriormente, se confirmó que la línea 1507 no implica la producción de cualquier aleloquímico en el cuerpo en la planta que sean secretadas de las raíces y que pueden afectar a plantas de los alrededores (JBCH, 2002).

Además, como resultado de la prueba no se observaron diferencias sobre el número de hongos filamentosos, el número de bacterias, y el número de actinomices en el suelo utilizado para el cultivo del maíz con la línea 1507 y el maíz no-recombinante. Sobre la base de este resultado, se confirmó que el maíz con la línea 1507 no implica la producción de sustancias nocivas en el cuerpo de las plantas que sean secretadas de las raíces y pueden afectar a los microorganismos en el suelo (JBCH, 2002).

Se examinaron también los posibles efectos de las plantas de maíz muerto sobre otras plantas basados en los resultados de las pruebas de campo aislado realizadas en Japón, estas pruebas se evaluaron utilizando el método de *Sandwich*, y se llevaron a cabo también un total de 46 experimentos de campo en los EUA. En las pruebas de campo aisladas, se utilizó tierra preparada con la adición de los residuos de la línea 1507 y tierra con los residuos de la planta de maíz no recombinante, luego entonces se utilizó la lechuga como planta prueba de la cual se evaluó la tasa de germinación y crecimiento. Como resultado de ello, no se observaron diferencias estadísticamente significativas para la tasa de germinación de las dos variedades de los híbridos evaluados (JBCH, 2002).

Además, en los 46 experimentos de campo realizados en EE.UU., los *breeders* visitaron los campos en el siguiente año de cultivo para la observación de posibles efectos. Como resultado de la observación, en todos los campos utilizados para el cultivo del maíz con la línea 1507, no se observó un efecto aparente en el crecimiento de los cultivos que pudieran ser atribuidas al cultivo del maíz recombinante (JBCH, 2002).

PAT

La proteína PAT fue analizada para digestibilidad *in vitro* utilizando fluidos gástricos simulados conteniendo pepsina proteolítica (Glatt, 1999). Para cada punto en tiempo, 8 µg de la proteína PAT fueron mezclados con líquido gástrico simulado (pH 2.0) conteniendo aproximadamente 0.3% pepsina (peso/volumen). Proteínas y fragmentos digeridos (si presentes) que fueron separados electroforeticamente y visualizados con azul de Comassie en el gel. Bajo condiciones de este estudio, la proteína microbiana PAT fue completamente digerida en cinco segundos bajo condiciones gastrointestinales simuladas indicando muy poca estabilidad del ambiente simulado gastrointestinal. (EFSA)

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

k) Patogenicidad o virulencia de los organismos donadores y receptores

EVENTO DAS-01507-1

El maíz (*Zea mays* L.) no es un organismo patogénico y su domesticación como cultivo agrícola tiene un largo historial. Además, el maíz no presenta anti-nutrientes reconocidos que se consideren nocivos para el medio ambiente para la salud animal y humana (White y Pollak, 1995).

La fuente del gen cry1F es *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), un grupo diverso de bacterias formadoras de esporas Gram positivas. 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 tóxicas a humanos o animales.

Las variedades 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* (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*, que 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 alergeno (Van Wert, 1994).

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).

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

ALERGENICIDAD

Se llevó a cabo un análisis bioinformático para evaluar el potencial alergénico de las secuencias de las proteínas Cry1F y PAT. Las secuencias de 605 residuos aminoácidos de la proteína Cry1F y 183 residuos aminoácidos para la proteína PAT, fueron comparadas con una base de datos de 1471 secuencias alergénicas conocidas y putativas que comprenden el conjunto de datos FARRP10 de la Universidad de Nebraska (actualización 1/2010 para la proteína Cry1F y Enero, 2010 para la proteína PAT). Se evaluaron las potenciales identidades entre Cry1F y PAT con las proteínas en la base de datos de alergenos mediante la herramienta de alineación FASTA34 usando los parámetros estándar. Para indicar el potencial de reactividad cruzada se usó como parámetro el 35% o más como marco de identidad sobre secuencias de 80 o más aminoácidos de longitud entre la proteína en cuestión y cualquier alérgeno (FAO/WHO 2001; Codex 2003). No se encontraron coincidencias mayores a 35% sobre ≥80 residuos para ninguna de las secuencia protéicas (Cry1F y PAT). Adicionalmente, las secuencias de las proteínas Cry1F y PAT fueron evaluadas para 8 o más coincidencias de aminoácidos idénticos contíguos para los alergénos contenidos en la base de datos arriba descrita; como resultado, no se encontraron coincidencias para ninguna de las proteínas en cuestión.

Es importante mencionar, que las formulaciones conteniendo poteínas Cry se han utilizado en un gran número de cultivos, incluyendo vegetales frescos, sin ningún reporte de alergenicidad. Esto establece bases sólidas para determinar la ausencia de alergenicidad de la proteína Cry1F.

TOXICIDAD

Análisis bioinformático

Para buscar la potencial similitud con toxinas conocidas, las secuencias de aminoácidos de las proteínas Cry1F y PAT fueron comparadas con el conjunto de datos NCBI Entrez Protein usando el algoritmo BLASTP 2.2.13 (15/10/2010), el cual incorpora entradas no redundantes de traducciones de nucleótidos de GenBank y RefSeq junto con secuencias del SWISS-PROT (http://www.expasy.org/sprot/), PIR (http://pir.georgetown.edu/), PRF (http://www.prf.or.jp/index-e.html) y PDB (http://www.wwpdb.org/). Se usó un valor E =1.0 para generar una significancia biológica similar entre las proteínas de interés y las proteínas en el conjunto de datos NCBI. La matriz de valores usada fue la estándar (BLOSUM62, el filtro de baja complejidad fue apagado y el número de alineaciones arrojadas fue ajustado al valor máximo (2000).

La secuencia de la proteína Cry1F arrojó 508 resultados con un valor esperado (E) menor a 1.0. Solo 47 secuencias arrojadas mediante la búsqueda BLASTP fueron de organismos diferentes a *Bacillus thuringiensis*; 14 de esas secuencias son de otras familias de *Bacillus*. La 33 secuencias protéicas restantes, incluyendo 21 proteínas hipotéticas fueron de varias especies. Cinco de las 12 secuencias no hipotéticas están registradas como delta-endotoxinas bacterianas o proteínas cristal de tipo pesticida debido a que poseen uno o mpas dominios conservados, mientras que las 7 secuencias restantes tienen descripciones variadas. Seis de las 7 secuencias aparentemente presentan la mimsma secuencia de la bacteria Saccharomyces cerevisiae y está cerca del límite de significancia (E =0.99), mientras que la séptima parece tener un registro perdido “señal de la vía de traslocación doble-arginina” del pryecto de secuenciación de *Ralstonia eutropha*. Ninguna de las secuencias de proteínas arrojadas por la búsqueda BLASTP representa problemas de seguridad que pudieran aparecer por la expresión de Cry1F en plantas genéticamente modificadas.

La búsqueda BLASTP usando la secuencia de la proteína PAT como consulta arrojó 1555 resultados con un valor esperado (E) menor a 1.0. Las dos alineaciones con puntuaciones más altas se atribuyen a las proteínas PAT de *Streptomyces viridochromogenes* (100% de identidad a la secuencia en consulta) (Straueech *et al*., 1988) y la proteína Bar de *Streptomyces hygroscopicus* (84% de identidad a la secuencia en cosulta) (Thomson et al., 1987). Ambas proteínas han sido objeto de extensivas evaluaciones de seguridad y han sido consideradas seguras para su expresión en plantas transgénicas (Hérouet *et al.*, 2004). Muchas de las secuencias resultantes de la búsqueda representan contrucciones sintéticas, que consisten primariamente de vectores de transformación conteniendo porciones de las proteínas PAT o Bar antes mencionadas.

De las secuencias restantes, 485 fueron anotadas como fosfinotricina acetiltransferasas. La mayoría de los alineamientos PAT restantes son secuencias caracterizadas como acetiltransferasas, N-acetiltransferasas, o GCN5 o GNAT acetiltransferasas conocidas o putativas. Adicionalmente, múltiples resultados fueron sortasas, acetiltransferasas, proteínas resistentes a antibióticos o toxinas, acetiltransferasas alanina-proteína-ribosomal, o histona acetiltransferasas. Treinta y un de los alineamientos restantes poseen dominios adicinales o no contienen ningún dominio relacionado a acetiltransferasas, mientras que 179 secuencias están registradas como hipotéticas, predichas, desconocidas o no nombradas. Ninguno de los 1555 registros representa problemas de seguridad que pudieran aparecer por la expresión de PAT en plantas GM.

Toxicidad oral aguda

El estudio de toxicidad oral-aguda de la proteína Cry1F en humanos y animales (Kuhn, 1998). La δ-endotoxina de la proteína Cry1F aislada de *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* fue evaluada en ratones. Es necesario utilizar una fuente de Cry1F microbiana por ciertos estudios toxicológicos debido a los bajos niveles de expresión de la proteína en plantas de maíz. La proteína Cry1F fue producida en la cepa Pseudomonas MR872. La equivalencia bioquímica y biológica de la proteínas Cry1F derivada en forma microbiana y la proteína Cry1F derivada de la planta fue establecida mediante la comparación de su peso molecular, inmunoreactividad, ausencia de glicosilación, homología de la secuencia de aminoácidos N-terminal y actividad biológica con respecto al gusano barrenador Europeo y otras dos plagas de insectos (Evans, 1998).

Cinco ratones machos y cinco hembras fueron dosificados con un material de prueba al 15% w/v en 2% w/v carboxi-metilcelulosa (CMC) en dos dosis con un total de 33.7 ml/kg de peso cuerporal. Las dosis fueron suministradas en dos volúmenes iguales con aproximadamente una hora de diferencia. Se realizaron observaciones de mortalidad y/o patológicas clínicas o de comportamiento tres veces en el día 0 del estudio y dos veces el resto de los 14 días que duró el estudio. El peso se midió en los días 7 y 14 del estudio. Al final del estudio, los animales de prueba fueron sacrificados para realizar la necropsia. No se observó mortandad durante el estudio. No se observaron señales clínicas durante el estudio y no se notaron irregularidades al momento de la necropsia. El LD_{50} en el estudio fue determinado como mayor a 5050 mg/kg. Cuando la pureza del material de prueba se ajustó (11.4%), el LD_{50} en el estudio fue mayor de 576 mg/kg. Esta dosis es 12,190 veces mayor que la estimada que un humano podría comer si es alimentado con maíz con el gen *cry*1F (Wolt, 1999). Esto suponiendo que el 100% del cultivo de maíz produjera proteína Cry1F y la proteína no se degradara o no fuera eliminada en el procesamiento de alimentos. Estos cálculos extremadamente conservadores del margen de exposición apoyan la teoría de la seguridad de la proteína Cry1F en humanos.

Para medir la posible toxicidad de la proteína Cry1F en dietas comerciales de pescado se analizó la estabilidad de la proteína Cry1F durante la preparación de las dietas (Mayers, 1999). Fue elaborada comida experimental para peces a partir de granos de plantas de maíz expresando la proteína *Bt* Cry1F usando un proceso comercial. La dieta para peces fue analizada para la proteína Cry1F con ELISA utilizando un bioensayo con larvas de primer estadio de gusano tabacalero. El análisis de ELISA de las dietas demostró que la endotoxina Cry1F no fue detectadle en las muestras con un limite de detección de 0.04 ng/mg. El análisis estadístico de los bioensayos indica que no hubo actividad biológica significativa asociada con las dietas conteniendo alimento de maíz expresando la proteína Cry1F. En base a estas observaciones, el bajo contenido de la proteína Cry1F en granos de maíz y el hecho de que solamente cantidades limitadas se incorporaron a la dieta de los peces, se puede concluir que los peces no serán expuestos a la proteína Cry1F en dietas comerciales para peces.

La proteína PAT, la cual fue 84% proteína pura, fue también evaluada en un estudio de toxicidad oral aguda (Brooks, 2000). Cinco ratones machos y cinco hembras recibieron 6000 mg/kg de material de prueba (conteniendo 5000 mg/kg PAT) como suspensión al 25% en 0.5% de metilcelulosa. Como el volumen del material de prueba en metilcelulosa excedió 2 ml/100g en peso, la suspensión del material de prueba fue administrado en dos fracciones separados una hora aproximadamente. Los parámetros evaluados durante las dos semanas de prueba incluyeron peso del cuerpo y observaciones clínicas detalladas. Todos los animales fueron evaluados por cambios patológicos. Todos los ratones sobrevivieron hasta el final de las dos semanas de prueba. No hubo cambios clínicos y todos los ratones ganaron peso en el tiempo que duro el estudio. No hubo lesiones patológicas para ningún animal en el estudio. Bajo las condiciones del estudio, la LD_{50} de la proteína PATen ratones machos y hembras CD-1 fueron mayores a 6000 mg/kg. Estos resultados son consistentes con previos estudios donde se indica que la proteína PAT no representa riesgo alguno a la salud humana (EPA, 1997; EPA, 1995). Por lo tanto, la expresión de la proteína PAT en la línea de maíz *Bt* Cry1F 1507 no representa riesgos para la salud humana en dietas alimenticias.

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII
Ver Anexo V, Opinión de la EFSA

l) 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

EVENTO DAS-01507-1

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

La proteína fosfinotricina acetiltransferasa (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, la fosfinotricina se convierte en una forma inactiva que no es toxica a las plantas de maíz. El 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.

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

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

Ver inciso j) del apartado I

n) Referencias bibliográficas de los datos presentados

Adang, M. J., Firoozabady, E., Klein, J., DeBoer, D., Sekar, V., Kemp, J.D., Murray, E., Rocheleau, T.A., Rashka, K., Staffeld, C., Stock, C., Sutton, D. and Merlo, D. J. 1987. Expression of a Bacillus thuringiensis insecticidal crystal protein gene in tobacco plants. Published in: Molecular Strategies for Crop Protection, C. Arntzen and C. Ryan, (ed. Alan R. Liss) Inc. New York p. 345-353.

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.

Barton, K.A., Whiteley, H.R., Yang, Ning-Sun. 1987. Bacillus thuringiensis d-endotoxin expressed in transgenic Nicotiana tabacum provides resistance to lepidopteran insects. Plant Physiology 85:1103-1109.

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

Beck, E., Ludwig, G., Auerswald, E.A., Reiss, B. and Schaller, H. 1982. Nucleotide sequence and exact localization of the neomycin phosphotransferase gene from transposon Tn5. Gene, 19, pp. 327-336.

Bravo, A. 1997. Phylogenetic Relationships of Bacillus thuringiensis δ-Endotoxin Family Proteins and Their Functional Domains. Journal of Bacteriology, p. 2793-2801.

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.

CERA. (2010). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database

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

CFIA. Oct 2002. Decision document DD2002-4198-22: Determination of the Safety of Dow AgroSciences Canada Inc. and Pioneer Hi-Bred International's Insect Resistant and Glufosinate - Ammonium Tolerant Corn (*Zea mays* L.) Line 1507. Canadian Food Inspection Agency, Plant Health and Production Division, Plant Biotechnology Office, Ottawa

Christensen, A.H., R.A. Sharrock, and P.H.Quail. 1992. Maize polyubiquitin genes: Structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. Plant. Mol. Biol. 18:675-689.

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.

Eckes, P., Vijtewaal, B., Donn, G. 1989. Synthetic gene confers resistance to the broad spectrum herbicide L-phosphinothricin in plants (Gen sintético confiere a las plantas resistencia al herbicida L-fosfinotricina de amplio espectro). J. Cell. Biochem. 13D:334.

EFSA. 2005. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (reference EFSA-GMO-NL-2004-02) 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

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 Cry1A(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

Evans, S.L. 1998. Equivalency of Microbial and Maize Expressed Cry1F Protein; Characterization of Test Substances for Biochemical and Toxicological Studies. Report number MYCO98-001, an unpublished technical report by Mycogen Seeds c/o Dow AgroSciences.

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.

Fischhoff, D., Bowdish, K., Perlak, F., Marrone, P., McCormick, S., Niedermeyer, J., Dean, D., Kusano-Kretzmer, K., Mayer, E., Rochester, K., Rogers, S., and Fraley, R. 1987. Insect tolerant transgenic tomato plants. Bio/Technology 5:807-813.

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.

JBCH. 2002. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1 use approval for DAS-Ø15Ø7-1. Japanese Biosafety Clearing House, Ministry of Environment.

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.

Murray, E., Lotzer, J. and Eberle, M. 1989. Codon usage in plant Genes. Nucleic Acids Research 17(2):477-498.

Odell, J.T., Nagy, F. and Chua, N.H. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. Nature, 313, pp. 810-812.

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

Pietrzak, M., Shillito, R., Hohn, T. and Potrykus, I. 1986. Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new plant expression vector. Nucleic Acids Research 14, pp. 5857-5868.

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

Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R., and Dean, D. H. 1998 Bacillus thuringiensis and Its Pesticidal Crystal Proteins. Microbiol. Mol. Biol. Reviews. Sept., 1998. p. 775-806.

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

USDA/APHIS. 2001. Decision on Mycogen Seeds c/o Dow AgroSciences LLC and Pioneer Hi-Bred International, Inc. Petition 00-136-01P Seeking a Determination of Nonregulated Status for Bt Cry1F Insect Resistant, Glufosinate Tolerant Corn Line 1507. Animal and Plant Health Inspection Service and U.S. Department of Agriculture

Van Wert, 1994. Petition for Determination of Nonregulated Status: Glufosinate Resistant Corn Transformation Events T14 & T25. U.S. Dept. of Agriculture, Washington.

Vaeck, M., Reynaerts, A., Hofte, H., Jansens, S., De Beuckeleer, M., Dean, C., Zabeau, M., Van Montagu, M., and Leemans, J. 1987. Transgenic plants protected from insect attack. Nature 328:33-37.

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

Wohlleben, W., Arnold, W., Broer, I., Hillemann, D., Strauch, E. and Pühler, A. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from Streptomyces viridochromogenes Tü494 and its expression in Nicotiana tabacum. Gene, 70, pp. 25-37.

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.

Yanisch-Perron, C., Vieira J. and Messing J. 1985. Improved M13 Phage Cloning Vectors and Host Strains: Nucleotide Sequences of the M13 mp18 and pUC19 Vectors. Gene 33:103-119.

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

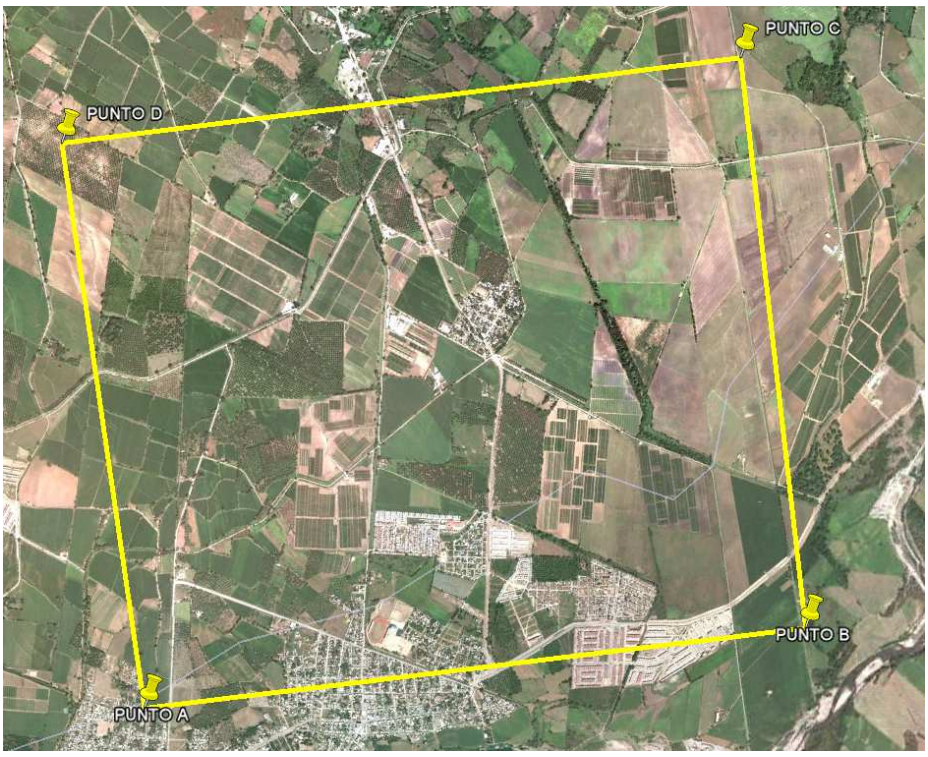
Superficies totales de los polígonos de liberación

Los lugares donde se realizará la liberación del maíz DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 para su evaluación se encuentran en el Municipio de Bahía de Banderas, en la Estación Experimental Puerto Vallarta (NRSP), Estado de Nayarit; localizándose en un polígono los predios propuestos para realizar la liberación dentro de las coordenadas correspondientes.

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

Tabla 4. Coordenadas geográficas y UTM del polígono para la Estación experimental Puerto Vallarta (NRSP), Municipio de Bahía de Banderas.
Polígono de siembra en la Estación experimental Puerto Vallarta (NRSP), Municipio de Bahía de Bandera, Nayarit.

Vertice	Coordenadas del poligono			
	GEOGRAFICAS		UTM	PUNTO
	105°14'31.44"O	-105.242067°	474801.79	LONGUITUD (X)
A	20°45'26.88"N	20.757468°	2295325.2	LATITUD (Y)
	105°12'11.90"O	-105.203305°	478839.38	LONGUITUD (X)
B	20°46'34.24"N	20.776177°	2297390.18	LATITUD (Y)
	105°13'13.35"O	-105.220375°	477067.4	LONGUITUD (X)
C	20°48'26.87"N	20.807464°	2300855.06	LATITUD (Y)
	105°15'35.63"O	-105.259897°	472951.2	LONGUITUD (X)
D	20°47'17.13"N	20.788092°	2298717.26	LATITUD (Y)



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:

2.c.1 Listado de especies sexualmente compatibles y de las especies que tengan interacción en el área de liberación y en zonas vecinas a éstos;

El listado de las especies sexualmente compatibles corresponde a lo publicado por el diario oficial de la federación el 10 de Noviembre de 2000.

Ver inciso c), numeral I.

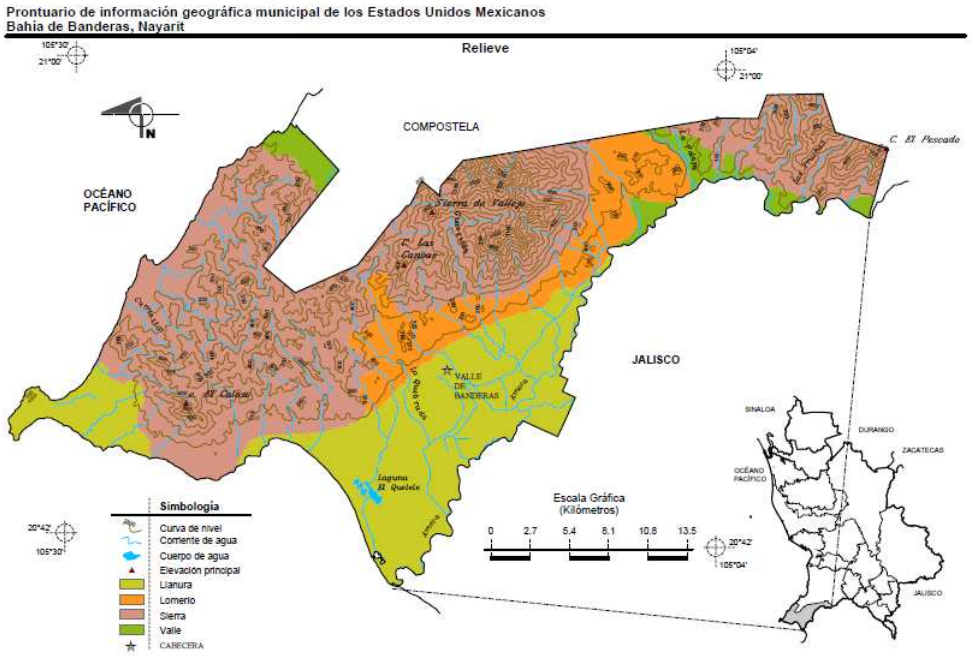
2.c.2 Descripción geográfica,



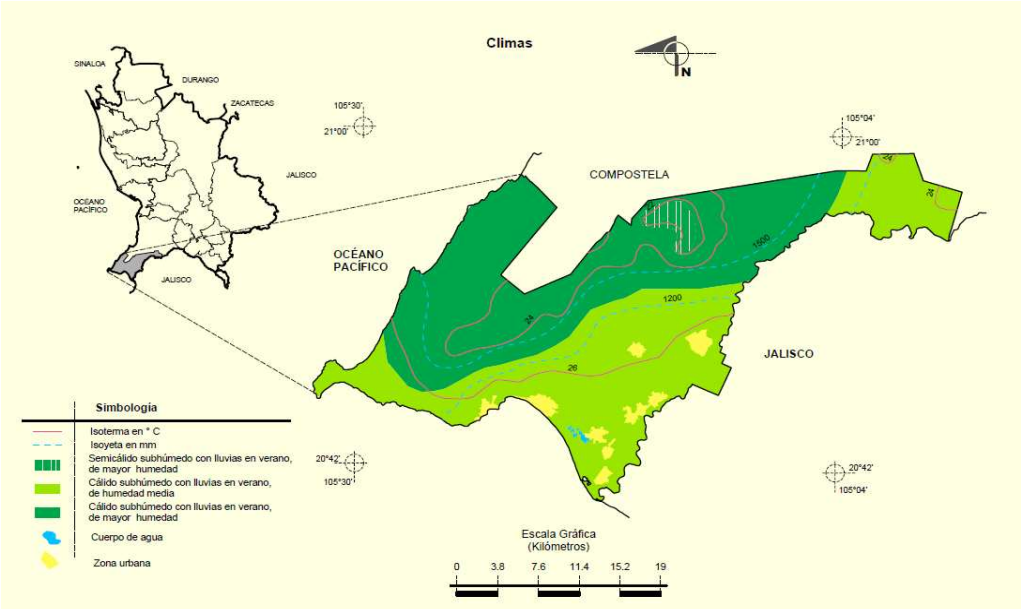
Figura 2. Información geográfica - climática del Estado de Nayarit.

DESCRIPCIÓN DEL LA ZONA CORRESPONDIENTE POLÍGONO DE LIBERACIÓN.

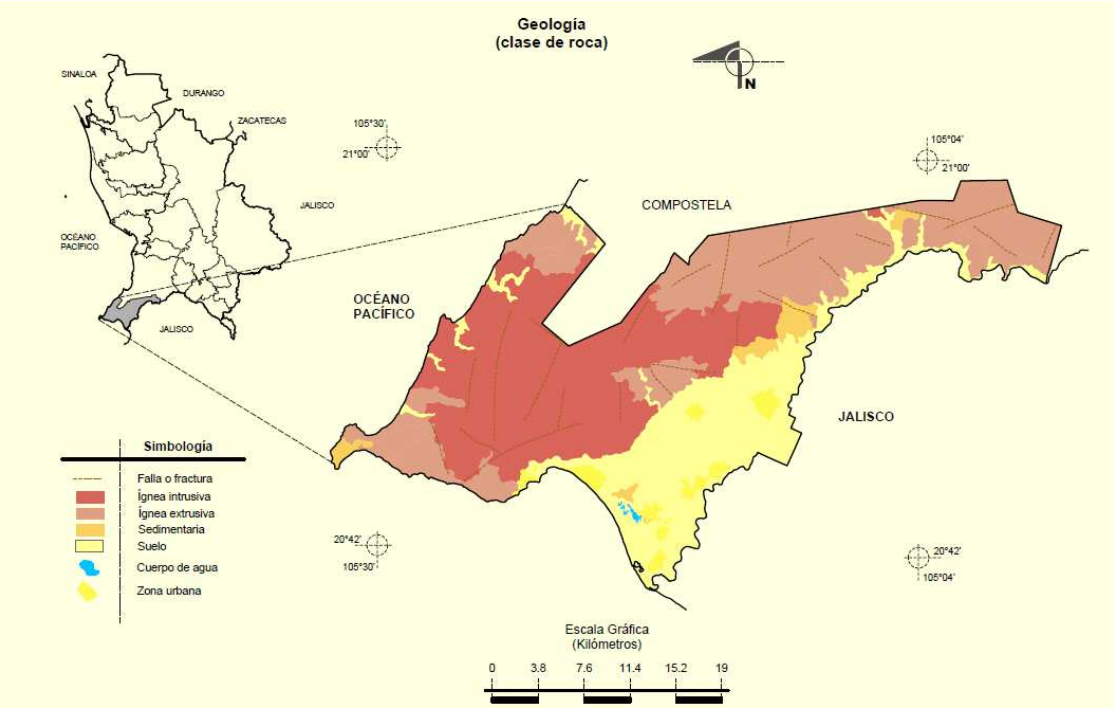
A) <u>Descripción de relieve,</u>



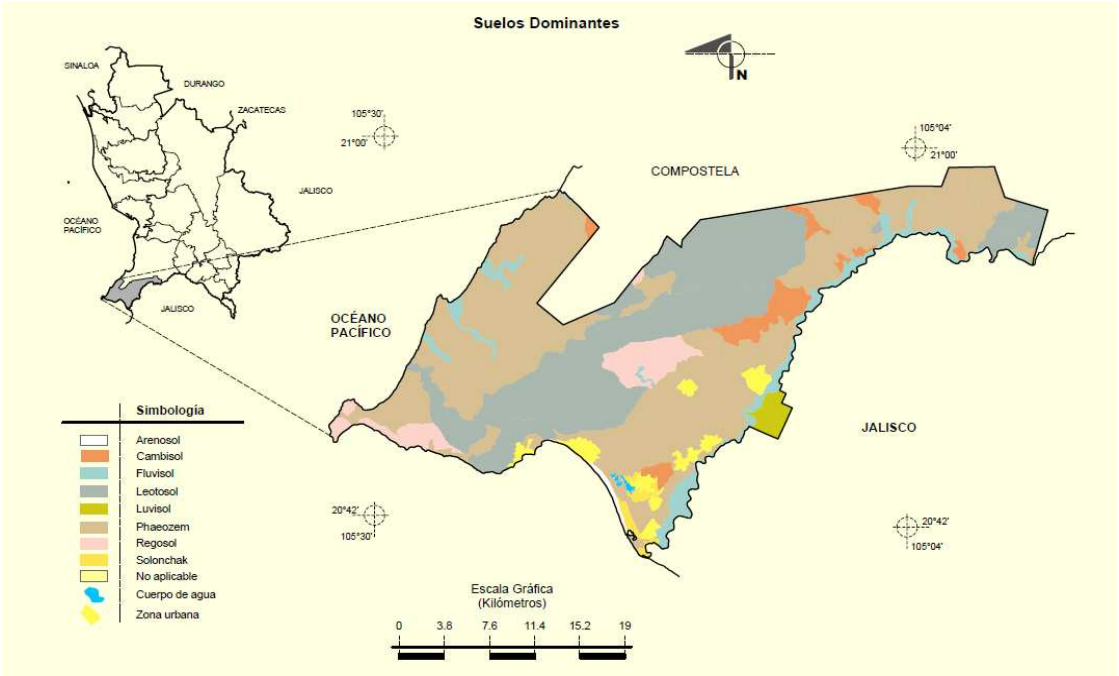
B) <u>Descripción de climas.</u>



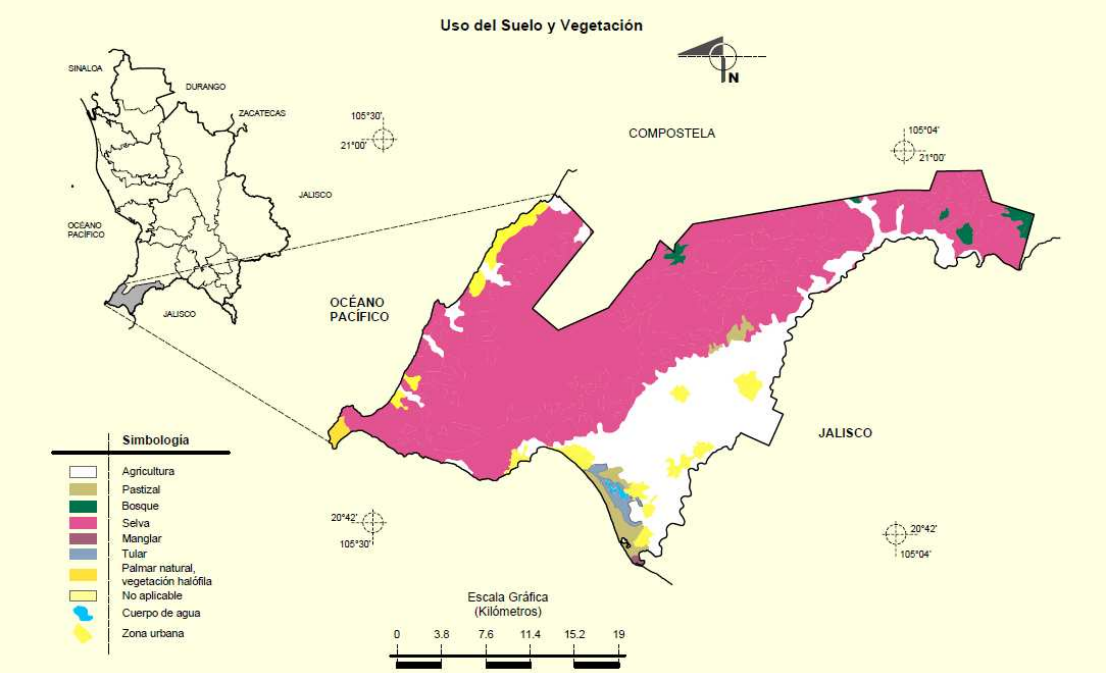
C) Descripción geológica.



D) Descripción de suelos dominantes



E) Descripción de suelos y vegetación.



F) Áreas naturales protegidas.

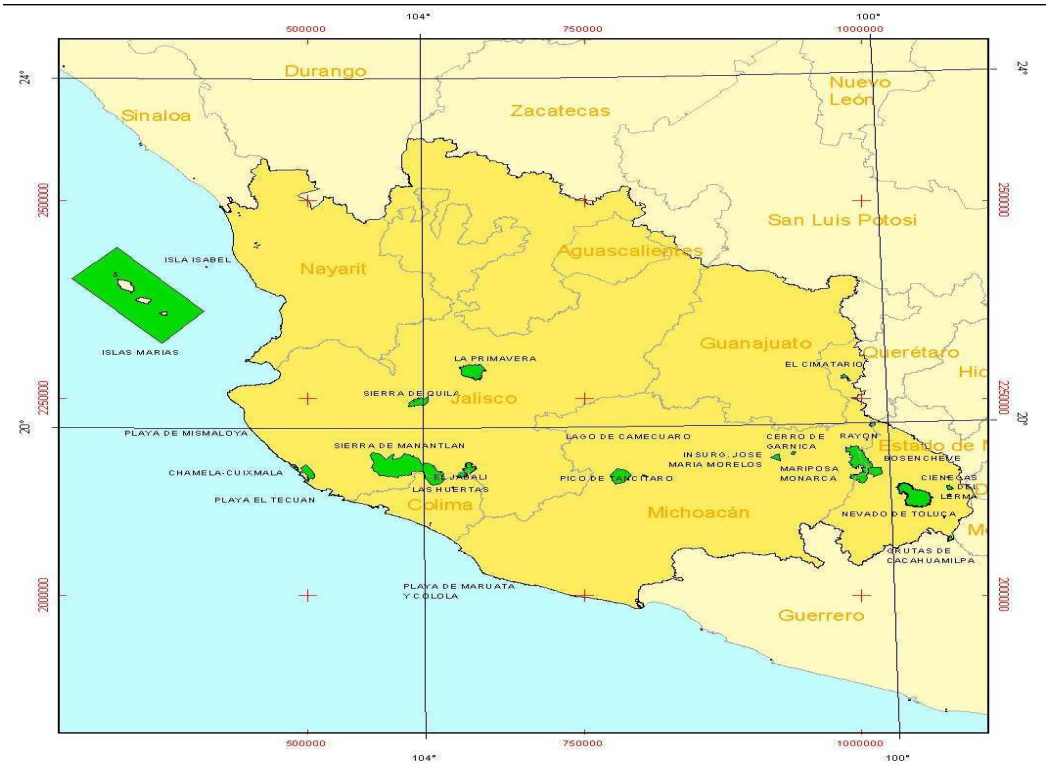


Figura 3. Descripción geográfica especifica del área de liberación de maíz genéticamente modificado (A-F).

Estación Experimental Pioneer Puerto Vallarta (NRSP), Municipio de Bahía de Banderas , Estado de Nayarit,

La estación Pioneer Puerto Vallarta, ubicada en el estado de Nayarit se encuentra localizada en una Latitud 20° 47´ Norte, longitud 105°14´ oeste y con una altura de 38 metros sobre el nivel del mar, está dentro del municipio de Bahía Banderas el cual colinda al norte con el municipio de Compostela, al este con el estado de Jalisco, al sur con el Océano Pacífico y el estado de Jalisco y al oeste con el Océano Pacífico.

Orografía: poco más del 70% de su territorio es terreno cerril tipo semimontañoso que da origen a la Sierra Madre del Sur, el resto es llanura costera, lomera y pequeños valles en el altiplano. Las elevaciones principales son: La sierra de Vallejo, con una altitud de 1420 msnm, y los cerros Las Canoas (740 msnm), El Cora (720 msnm), La Bandera (600 msnm), Carboneras (150 msnm) y El Caloso (500 msnm). La cabecera municipal tiene una altura sobre el nivel del mar de 60 metros.

Hidrografía: Se cuenta con diversas ríos, como son: La Cucaracha, La Palapa, Galván, Las Truchas, Las Mesas, El Indio, La Peñita, Hustitán, La Quebrada, Charco Hondo, Calabazas, Las Ánimas, Carricitos, Bucerías y Ameca, el cual destaca por sus 1,250 millones de metros cúbicos de escurrimiento. Cuenta también con la laguna El Quelele.

Clima: Es cálido subhúmedo, con lluvias en verano de junio a septiembre y la precipitación media anual es de 1,159.2 mm. La temperatura media anual oscila entre los 23.1 ºC y 27.8 ºC. El 90% de los días del año son soleados.

Textura de terrenos. La textura del suelo dentro del NRSP tiene una gran variedad de texturas como se muestra en la Figura 21, lo que afirma que se lleva un control y análisis sobre los terrenos que en son utilizados para la siembra de nuestro materiales.

Características y Uso del Suelo: en las zonas de liberación predominan los migajones rojos, cafés, rojizos y amarillos del grupo laterítico, existiendo en menor proporción los de insitos de montaña con vegetación raquítica. Conforme la altura disminuye los suelos cambian a los de tipo chusmet y a los negros o chumazeros. Bahía de Banderas tiene una extraordinaria potencialidad económica por su vocación agropecuaria y turística. De su suelo el 21% se dedica al uso agrícola, 12% al ganadero, 42% al forestal ganadero y el 25% a otro tipo de usos.

Velocidad del viento y ppma: se cuanta con una estación metereológica llamada Vantage Pro Plus, que con la ayuda de un software de la marca Davis llamado Wheather link se mantiene una constante observación de éstas variables, por otro lado también contamos con instrumentos en la estación experimental NRSP como es el pluviómetro para la medición de la presión pluvial.

Referencias

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Información Geográfica. Mapas de Climas. Nayarit.
http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/nay/clim.cfm?c=444&e=18
Enciclopedia de los Municipios de México. Estado de Nayarit. Bahía de Banderas. http://www.e-local.gob.mx/wb/ELOCALNew/enciclo_nay. Diciembre del 2010.

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:

a) Estabilidad de la modificación genética del OGM

Mediante análisis PCR evento-específico se demostró que las inserciones de ADN del maíz 1507, MON810 y NK603 son estables durante el proceso de cruza, y que el maíz apilado 1507xMON810xNK603 es resultado de la cruza satisfactoria de

esas líneas. El análisis Southern blot permitió verificar la equivalencia de las tres inserciones individuales en el maíz 1507xMON810xNK603.

Los datos de segregación proporcionan evidencias de la herencia estable del material genético introducido.

Ver estabilidad de la modificación genética en los incisos i) y j) del apartado I.

b) Características del fenotipo del OGM

Las características fenotípicas del maíz 1507xMON810xNK603 son equivalentes a las de su contraparte convencional con excepción de la resistencia a lepidópteros y la tolerancia a glifosato que le proveen los genes *cry*1F, *cry*1Ab y CP4 *epsps:*

Gen *cry1*F

El gen *cry*1F codifica para la síntesis de la proteína Cry1F, que actúa por unión selectiva a los sitios específicos localizados en el revestimiento del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Posterior a la unión, se forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio, causando parálisis intestinal y finalmente la muerte por septicemia bacteriana. Cry1F es letal sólo cuando es consumida por las larvas de algunos insectos lepidópteros y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos objetivo. No hay sitios de unión para para delta-endotoxinas de *B. thuringiensis* en la superficie de las células intestinales de mamíferos, por lo tanto, el ganado y los seres humanos no son susceptibles a estas proteínas.

Gen *pat*

La proteína fosfonitrocina acetiltransferasa (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).

Gen *cry*1Ab

El gen *cry*1Ab produce una versión truncada de la proteína insecticida Cry1Ab, derivada del *Bacillus thuringiensis*. Las Delta-endotoxinas, como la proteína Cry1Ab expresada en MON810, actúan de forma selectiva mediante la unión a sitios específicos localizados en el epitelio del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Tras la unión, cationes específicos forman poros que interrumpen el flujo de iones del intestino medio y por tanto causa parálisis y la muerte del insecto. La proteína Cry1Ab es insecticida sólo con algunos insectos lepidópteros, y su especificidad de acción es directamente atribuible a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos blanco.*

Gen *CP4 EPSPS*

La enzima EPSPS es parte de la ruta metabólica del shikimato para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en plantas (incluido el maíz) y en microorganismos, por lo tanto también se presenta ordinariamente en derivados de alimentos de origen vegetal. Esta vía metabólica no esta presente en los mamíferos. El herbicida glifosato mata a la planta debida a la inhibición de la enzima EPSPS. El gen EPSPS de *Agrobacterium sp*. cepa CP4 es altamente tolerante a la inhibición por el glifosato y tiene una alta eficiencia catalítica, por lo cual las plantas GM tolerante al glifosato no son afectadas al ser tratadas con este herbicida debido a la actividad contínua de las enzimas EPSPS ya que la producción de aminoácidos aromáticos no se ve afectada.*

*CERA. (2010). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database

c) 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.

Las características fenotípicas nuevas expresadas por el maíz DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 son la resistencia a algunos insectos lepidópteros [Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda*); Gusano Elotero (*Helicoverpa zeae*) y barrenador

del tallo (*Diatraea saccharalis*)] conferida por los genes *cry*1F y *cry*1Ab; y la tolerancia a glifosato, conferida por el gen *cp*4 *epsps*.

Los resultados hasta ahora observados en experimentos establecidos en otros países no han demostrado efectos adversos para la diversidad biológica y el medio ambiente en el desarrollo del maíz 1507xMON810xNK603. Además, los eventos que componen al maíz 1507xMON810xNK603 han sido desregulados con la previa evaluación de la APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service), la EFSA (European Food Safety Authority) y otras agencias reguladoras en diferentes países, y han sido considerados seguros para el medio ambiente y la diversidad biológica.

En la presente solicitud de liberación experimental al ambiente se hace referencia a las estrictas medidas de bioseguridad a llevar a cabo durante la liberación del maíz GM 1507xMON810xNK603, por lo que la probabilidad de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente es extremadamente baja.

Potencial de transferencia de genes.

Los eventos con tolerancia a herbicida solo pueden ser considerados como proveedores de una ventaja selectiva para las plantas de maíz GM donde y cuando se aplican herbicidas con ingrediente activo glifosato. Igualmente, la resistencia a insectos plaga para ciertos lepidópteros provee una potencial ventaja en cultivo bajo condiciones de infestación. Sin embargo la supervivencia del maíz fuera de cultivo es significativamente limitada por una combinación de baja competitividad, ausencia de la fase de dormancia y susceptibilidad a enfermedades. Ya que las características generales del maíz GM 1507xMON810xNK603 han permanecido sin cambio, los eventos insertados para resistencia a algunos insectos lepidópteros y tolerancia a glifosato, no aparentan proveer una ventaja selectiva fuera de cultivo. Por lo que se considera improbable que individuos de este maíz GM o su progenie pueda diferir de las variedades de maíz convencional en su habilidad para sobrevivir en subsecuentes temporadas o establecer poblaciones silvestres.

a) Transferencia genética de planta a bacterias

Datos científicos actuales sugieren que la transferencia de genes de plantas GM a microorganismos bajo condiciones naturales es extremadamente rara.

Los genes *cry1F*, *cry1Ab1* y *CP4 epsps* están bajo el control de promotores eucarióticos con restricción, la transferencia horizontal de genes es un evento improbable en procariotas. Los genes *cry1F, cry1Ab1* y *CP4 epsps,* son componentes de las poblaciones microbianas del suelo. Tomando en cuenta el origen y naturaleza de los genes *cry1F*, *cry1Ab, cp4* y *epsps* y la ausencia de presión selectiva en el tracto digestivo y/o en el ambiente, la probabilidad de transferencia horizontal, la posibilidad de conferir una ventaja selectiva o incremento en la aptitud en los microorganismos es muy limitada. Por esta razón es muy improbable que los genes del maíz GM pudieran transferirse y establecerse en el genoma de microorganismos en el medio ambiente de humanos y animales y el tracto digestivo animal.

b) Transferencia genética de planta a planta

Para el caso del maíz, cualquier transferencia genética vertical es limitada hacia otras plantas *Zea mays* como poblaciones silvestres sexualmente compatibles.

La tolerancia a herbicidas y resistencia a insectos proveen ventajas agronómicas en cultivo donde y cuando los herbicidas específicos son aplicados y los organismos blanco están presentes. Sin embargo la supervivencia del maíz fuera de cultivos está principalmente limitada por una combinación de baja competitividad, ausencia de fase de dormancia y susceptibilidad a enfermedades.

Potenciales interacciones de la planta GM con organismos no blanco

Proteínas Cry1F y Cry1Ab

Las proteínas Cry correspondientes al maíz 1507 y MON810 son eventos registrados, donde los datos obtenidos han sido presentados a las agencias EPA y EFSA para su evaluación previa. En resumen, se han desarrollaron pruebas en organismos no objetivo para cada unos de los eventos individuales (o de sus respectivas proteínas Bt), ante estas pruebas no se han observado efectos adversos con exposiciones ambientales para cualquiera de las especies estudiadas. Por otro lado se realizaron pruebas con uno de los insectos más reconocidos públicamente, la “mariposa monarca”, en donde se probó la sensibilidad a Cry1F y Cry1Ab en larvas de la mariposa monarca resultando que no existe riesgo significativo a esta especie

con exposiciones ambientales pertinentes. Además, los datos indican que el destino ambiental de Cry1F y Cry1Ab es disipado rápidamente en el suelo. Por lo tanto la acumulación de las proteínas en el suelo debe ser mínima, disminuyendo así la probabilidad de exposición a los organismos del suelo que no son objetivo. Respecto a los niveles de Cry1F y Cry1Ab se destaca que no se presentan riesgos excesivos al medio ambiente en organismos que no son objetivo, incluyendo mamíferos, aves, peces, abejas, y otros invertebrados, basándose en lo requerido y presentado de manera voluntaria en estos datos.*

Las áreas agrícolas donde se cultiva el maíz ni el maíz en sí, no son consideradas como hospederas de especies en peligro. Además, las especies en peligro tendrían que consumir el tejido de maíz B.t. (típicamente en estadío larvario) para ser expuestas a una potencial dosis letal. El riesgo a otras especies de insectos en peligro es poco probable que se dé debido a la especificidad de la proteína Cry1F para ciertas especies de lepidópteros y a la baja toxicidad mostrada por las especies no blanco.

Proteína Cry1F

Se llevó a cabo un estudio de 28 días para determinar los efectos crónicos de la proteína Cry1F en la supervivencia y reproducción de colémbolos (Halliday, 1998). Tres niveles de tratamiento de la sustancia de prueba Cry1F (0.63, 3.1 y 12.5 mg kg^{-1}), así como la sustancia de referencia (thiodicarb) fueron mezclados con levadura de Brewer para preparar la dieta de prueba. Los niveles de tratamiento de la proteína Cry1F del estudio fueron de 22 a 438 veces mayores a lo que podría ser encontrado en el campo, en base a los estimados de exposición calculados para la proteína Cry1F en suelo. Al final de la prueba, hubo menos del 10% de mortalidad asociada con la exposición a la sustancia de prueba con la proteína Cry1F o al ensayo control. La mortalidad dependiente de la dosis fue observada para la sustancia de referencia (thiodicarb) con un 100% de mortalidad an el mayor rango de 10,000 ppm. La reproducción de los colémbolos no fue significativamente diferente para ninguna de las sustancias de prueba cuando fueron comparadas con los ensayos control. El número promedio de progenie no fue significativamente diferente para ninguna de las sustancias de prueba.No se observó mortalidad ni reducción del número de progenie después de la exposición a los materiales de prueba por 28 días. Los resultados del estudio que a niveles esperado en campo de maíz, los colémbolos no fueron afectados por la exposición crónica de proteína Cry1F.

Se realizaron diferentes estudios en insectos benéficos para evaluar el daño en insectos no blanco. La Tabla 10 de abajo sumariza los datos generados en estudios usando proteína Cry1F derivada de microbios. Los niveles de efectos medidos son sustancialmente mayores que los niveles de expresión y exposición de proteína Cry1F en el ambiente; por lo tanto, el nivel de riesgo es insignificante.

Tabla 5. Datos generados en studios utilizando la proteína Cry1F.

Título del estudio	**Resultados**
Dieta de toxicidad aguda LD_{50} y/o NOEC en abejas	LD_{50} y/o NOEC ≥ 540 ng Cry1F/larva
Insectos no blanco - crisopas	LC_{50} > 480 µg Cry1F/g dieta
Insectos no blanco - himenópteros parásitos	LC_{50} > 320 µg Cry1F/g dieta
Insectos no blanco - mariquitas	LC_{50} > 480 µg Cry1F/g dieta

La utilidad de maíz expresando la proteína Cry1F surge de su toxicidad a plagas de lepidópteros de importancia económica en la producción de maíz (p. ej. gusano cogollero). Debido a que la δ-endotoxina es activa contra algunas especies de lepidópteros, se realiza un análisis de riesgo para especies de lepidópteros no blanco y en peligro. El análisis de riesgo en mariposas monarcas es un predictor de riesgo consevador para especies de lepidópteros en peligro, ya que la especificidad rengo-hospedero para especies en peligro está más allá de los límites potenciales de exposición. Por lo tanto, las conclusiones del riesgo en relación las mariposas monarca pueden ser extrapoladas a un amplio espectro de especies de lepidópteros en peligro que pudieran ocurrir dentro de la proximidad a campos de producción de maíz Cry1F.

Potencial como maleza

Las características de las malezas han sido generalmente descritas por Baker (1974) como (1) la habilidad de la semilla de maleza para germinar en diferentes ambientes; (2) germinación discontinua y amplia longevidad de la semilla; (3) rápido desarrollo de la fase vegetativa a la de floración; (4) producción continua de semilla, tanto como las condiciones de crecimiento lo permitan; (5) autocompatibilidad; (6) polinización cruzada mediante visitantes no especializados o polinización por el viento; (7) alta dispersión de semillas en ambientes favorables y producción de semillas en un amplio rango de ambientes; (8) adaptabilidad a cortas o largas distancias de dispersión; (9) producción vegetativa o regeneración de

fragmentos y fragilidad (difícilmente removibles del suelo); y (10) habilidad para competir interespecíficamente por medios especializados.

El maíz no muestra ninguna de las características de maleza antes mencionadas, además no es invasiva de ambientes naturales. Los híbridos de maíz han sido domesticados por un largo periodo de tiempo, tanto que las semillas no pueden ser diseminadas sin la intervención humana, ni puede fácilmente sobrevivir de un ciclo a otro debido a su baja dormancia. La semilla de maíz no es dormante, pero puede persistir de un ciclo a otro bajo condiciones climáticas favorables y cuando la temperatura y humedad son adecuadas para que la semilla pueda germinar. Las plantas voluntarias de maíz, son en todos los casos, fácilmente identificadas y controladas manual o químicamente.

No se espera que la introducción de construcciones genéticas y nuevos eventos, como la resistencia a algunos insectos lepidópteros y resistencia a herbicidas, confiera características de maleza al maíz. De igual forma, la característica de resistencia a herbicidas ha sido usada ampliamente en el mejoramiento de plantas como un marcador selectivo. No hay razones para esperar que la protección contra ciertos insectos lepidópteros o la resistencia a herbicidas incremente la adpatabilidad de la línea de maíz, ya que el desarrollo de la línea de maíz 1507xMON810xNK603 es equivalente al del maíz convencional.

Ver Anexos V (Opinión Científica de la EFSA y Petición para la Determinación de Estatus no Regulado para la Línea de Maíz Bt Cry1F) y Anexo XIV (Análisis de riesgo. NIMF no.° 11. Maíz GM 1507xMON810).

La información referente al evento MON810 se encuentra disponible en:
CERA. (2010). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database

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

La presente solicitud hace referencia a las estrictas medidas de bioseguridad a llevar a cabo durante la liberación del maíz GM 1507xMON810xNK603, aunadas a las medidas que las autoridades competentes establezcan, por lo que la probabilidad de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente, es muy baja. Además, los eventos 1507, MON810 y NK603, han sido ampliamente evaluados por la APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service), el panel científico de la EFSA (European Food Safety Authority) y otras agencias reguladoras en diferentes países del mundo, y han sido considerados seguros para el medio ambiente y la diversidad biológica.

Los resultados hasta ahora observados en experimentos establecidos en otros países no han mostrado efectos no esperados en el desarrollo del maíz 1507xMON810xNK603, por lo que la experimentación propuesta en la presente solicitud, pretende entre sus diversos objetivos obtener información que proporcione a las Agencias Reguladoras indicativos en relación a los posibles efectos no esperados, así como la evaluación, estimación, manejo y prevención del maíz GM 1507xMON810xNK603.

Los datos que se presentan en la solicitud muestran un bajo riesgo a la salud humana y al ambiente. Además no ha habido evidencia de susceptibilidad incrementada a plagas de insectos o enfermedades en el maíz GM cuando es comparado con híbridos de maíz convencional.

e) 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.

Método de detección en laboratorio:

Los métodos de identificación para los eventos MON810 y NK603, reconocidos por Semillas y Agroproductos Monsanto S. A. de C. V. se encuentran en los compendios de información correspondientes que dicha empresa ha presentado a las secretarías competentes y a los cuales se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el Anexo XIII.

En el Anexo IV se encuentran los métodos de detección validados por la Joint Research Centre de la Unidad de Biotecnología y OGMs de la Comisión Europea para los eventos 1507, MON810 y NK603.

A continuación se describe el método de detección evento-específico de cuantificación para maíz TC1507 usando PCR en tiempo real desarrollado por Pioneer Hi-Bred International – GeneScan Analytics GmbH con la validación de la Joint Research Centre de la Unidad de Biotecnología y OGMs de la Comisión Europea:

El protocolo describe un procedimiento cuantitativo PCR TaqMan ® evento-específico en tiempo real para la determinación del contenido relativo de evento de ADN TC1507 para una muestra de ADN de maíz.

Para la detección específica del evento TC1507 en ADN genómico, se amplifica un fragmento de 58 pb de la región de recombinación de partes de la construcción insertada en el genoma de la planta, mediante dos cebadores específicos. Los productos de PCR se miden en cada ciclo (en tiempo real) por medio de una sonda oligonucleótido blanco-específico marcada con dos colorantes fluorescentes: FAM como marcador de extremo 5' y TAMRA como colorante marcado del extremo 3'.

Para la cuantificación relativa del evento TC1507 se usa un sistema de referencia maíz-específico que amplifica un fragmento de gen de 79 pb del grupo de alta movilidad (HMG), usando primers y una sonda gen-específico HMG marcados con los tintes fluorescentes, FAM y TAMRA.

El método fue optimizado para harina de maíz con el evento TC1507 mezclado con maíz convencional. La reproducibilidad y exactitud del método fue probado a través de ensayos colaborativos usando muestras con diferentes contenidos de OMG. El método fue validado en un ensayo colaborativo del Joint Research Centre (JRC) de la European Commission. El estudio fue realizado con 14 laboratorios.

Método de detección en campo

La detección del OGM en campo se realiza con tiras de flujo lateral, las cuales proporcionan resultados visuales en 3 a 5 minutos.

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

En la presente solicitud se hace referencia a las estrictas medidas de bioseguridad a llevar a cabo durante la liberación del maíz GM 1507xMON810xNK603, por lo que la probabilidad de efectos sobre la diversidad biológica y el medio ambiente es extremadamente baja.

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).

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) (Figura 23). 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).

Estudios recientes indican que la planta de teocintle produce más polen/planta y que el polen 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.

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).

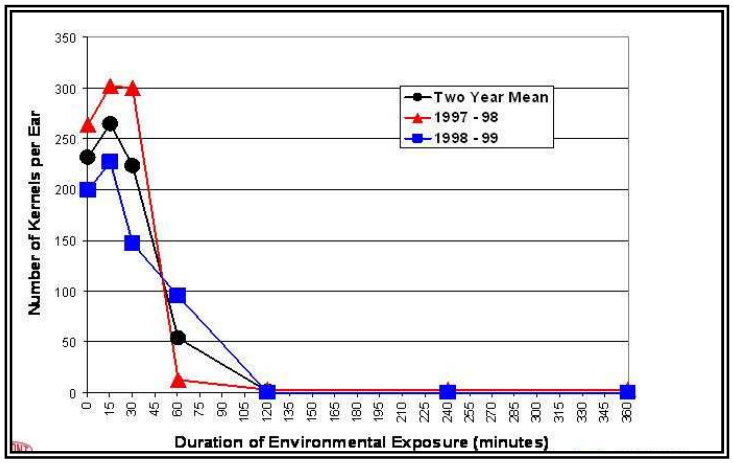


Figura 4. Pérdida de viabilidad del polen

Riesgo, L. *et al.* (2010) realizaron un análisis a partir de numerosos estudios en campo llevados a cabo recientemente por investigadores en Estados Unidos, donde se reporta estadísticamente datos en maíz sobre fertilización cruzada entre maíz convencional y maíz GM. Se muestra que una distancia de aislamiento de 40 m es suficiente para reducir la fertilización cruzada bajo el rango de 0.9%; y que con una separación de >90 m, se mantienen los valores de fertilización cruzada por debajo del 0.3% con una probabilidad mayor al 90% (ver Tabla 12)[1].

Tabla 6. Probabilidad de fertilización-cruzada bajo un nivel (%) usando una distribución gamma.

	Cross-fertilization threshold (% of seeds)[1]			
Distance (m)	1.5% Mean (low-high bounds)	0.9% Mean (low-high bounds)	0.5% Mean (low-high bounds)	0.3% Mean (low-high bounds)
(0–10]	49.44 (46.10–52.92)	41.16 (37.80–44.62)	33.11 (29.76–36.66)	27.30 (24.06–30.64)
(10–20]	*91.19* (88.58–93.70)	70.89 (67.56–74.38)	41.41 (37.78–45.06)	21.80 (18.20–25.68)
(20–30]	*99.86* (99.54–100)	*95.62* (92.12–98.44)	66.94 (58.30–75.14)	31.19 (21.52–41.00)
(30–40]	*99.99* (99.96–100)	*99.61* (98.76–100)	*94.14* (87.70–99.44)	77.26 (63.70–91.08)
(40–50]	*99.88* (99.56–100)	*98.56* (96.10–100)	*92.07* (84.12–99.80)	79.38 (66.48–95.34)
(50–70]	*99.88* (99.28–100)	*99.11* (96.26–100)	*95.89* (87.30–99.90)	88.05 (74.54–96.86)
(70–90]	*99.98* (99.90–100)	*99.58* (98.68–100)	*96.08* (91.56–99.94)	86.81 (77.48–97.66)
>90	*100* (100–100)	*99.96* (99.86–100)	*98.58* (97.30–99.54)	*90.76* (86.22–94.76)

[1]Numbers in italics indicate a scenario where separation distance is sufficient to reduce admixture in maize cultivation below different threshold levels (1.5%, 0.9%, 0.5% and 0.3%). Square brackets denote that the upper limit is included in the interval.

Los resultados del ensayo de dispersión de polen llevado a cabo el 2009 en Huatabampo, Sonora con maíces transgénicos (Reporte Final del Permisos B00.04.03.02.01.-8722, B00.04.03.02.01.-8723 y B00.04.03.02.01.-8724), mostraron que la mayor captura de polen se presenta entre 1 m y 50 m de distancia de la fuente emisora de polen, y que a partir de los 200 m a los 250 m de distancia no se detectan granos de polen.

Ver inciso f) del apartado III

[1] Riesgo, L. *et al.* Distances hended to limit cross-fertilization between GM and convencional maize in Europe. Nature Biotechnology. 28 , 8 (2010).

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

Baker, H. G. 1974. The evolution of Weeds. Anual Review of Ecology and Systematics. 5:1-24.

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.

Halliday, W.R. 1998. Environmental Fate of Cry1F Protein Incorporated into Soil. Repot Number 7569-98-0080-AC-001, an unpublished technical report by Mycogen Seeds C/o Dow AgroSciences.

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.

Riesgo, L. *et al.* 2010 Distances hended to limit cross-fertilization between GM and convencional maize in Europe. Nature Biotechnology. 28 , 8: 780-782.

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.

CERA. (2010). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database

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:

IV.a.1 Plan de monitoreo detallado

Se realizarán las siguientes actividades de monitoreo desde la siembra hasta la cosecha:

1.- Se realizará monitoreo de la germinación de la semilla.
2.- Se realizará monitoreo de enfermedades, insectos y plagas. Si el ataque de plagas llega al 10 – 15 %, se realizará una aplicación de insecticida.
3.- Se realizará el monitoreo de plantas voluntarias en los alrededores de los sitios de liberación.

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

Se realizarán las siguientes actividades de monitoreo después de la liberación:

1.- Se hará la búsqueda de plantas voluntarias mismas que serán destruidas por trituración, entierro profundo, incorporación al suelo o tratamiento con herbicida.
2.- Se realizará monitoreo cada 2 semanas durante un mes posterior a la cosecha, y cada 4 semanas durante 6 meses (siguiente ciclo), para detectar la germinación de plantas voluntarias.

3.- Todas las plantas voluntarias serán destruidas antes de la floración por trituración, entierro profundo, incorporación al suelo o tratamiento con herbicida.

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

Es posible detectar el evento mediante cualquiera de los dos siguientes métodos:

Método de detección en campo

La detección del OGM en campo se realiza con tiras de flujo lateral específicas para cada evento, las cuales proporcionan resultados visuales en 3 a 5 minutos.

Método de detección en laboratorio

Ver método de detección validado por el Laboratorio de Referencia de la Comunidad Europea (CRL) en el Anexo V.

b) Medidas y procedimientos de bioseguridad

IV.b.1 Medidas y procedimientos para prevenir la liberación y dispersión del OGM fuera de la zona o zonas donde se pretende realizar la liberación.

Se plantea establecer las siguientes medidas de bioseguridad y las que establezcan las autoridades competentes:

Empaque de la semilla

La semilla será empacada en bolsa de plástico hermética y contenida en cajas de cartón. La semilla deberá ser transportada en vehículo cerrado.

Etiquetado

Cada contenedor interno (bolsa) debe llevar una etiqueta con la frase “Material regulado” (ver etiqueta). Esta práctica puede evitar la mezcla inadvertida de material regulado (GM) con material convencional. Las etiquetas contendrán los siguientes datos:

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 vegetal regulado.
7. Datos de la persona a contactar en el caso de una liberación accidental

ETIQUETA DE TRANSPORTE DE MATERIAL REGULADO (REGULATED MATERIAL TRANSPORTATION LABEL)	
Cantidad de semilla (Amount of seed) 2.36 kg	**Identificador único o Nombre del evento (Event ID)** DAS-01507-1 x MON-00603-6
No. de Permiso de Liberación (GM corn approval No.) B00.04.03.02.01.8726 (Solicitud No.11)	**Especie vegetal (Specie-Type)** MAIZ GENÉTICAMENTE MODIFICADO
Forma del Material (Type of material) SEMILLA	
Identifique cualquier tratamiento aplicado a la semilla (Chemical treatment) FLUDIOXINIL, METALAXYL	
Persona de contacto en caso de emergencia (Emergency contact) RODOLFO GÓMEZ LUENGO	**Teléfono (Phone number)** 01 (33) 3679-7979

Figura 5. Ejemplo de etiqueta para los contenedores de semilla GM.

Almacenamiento temporal

- La semilla será almacenada en un lugar seguro donde se señalará que dentro del sitio se almacena material genéticamente modificado regulado.
- La semilla genéticamente modificada (GM) permanecerá separada de semilla no regulada con la finalidad de evitar la mezcla involuntaria.
- Se mantendrá señalizado (ver señalización) el sitio de almacenamiento en todo momento.
- Se restringirá el ingreso al sitio de almacenamiento, solo tendrá acceso el personal autorizado.
- El sitio de almacenamiento será custodiado por personal de Pioneer.

CONTIENE MATERIAL VEGETAL TRANSGÉNICO

ACCESO RESTRINGIDO AL PERSONAL DESIGNADO POR EL RESPONSIBLE TÉCNICO

NOMBRE DEL RESPONSABLE TÉCNICO: M. C. JUAN ENRIQUE CAMPOS WHITE
TELÉFONO: 3292910090

EN CASO DE EMERGENCIA O DAÑO CONTACTE INMEDIATAMENTE AL RESPONSABLE TÉCNICO

Figura 6. Datos para señalización del sitio de almacenamiento temporal de semilla GM.

Revisar Anexo XVI. Proceso de importación de semilla.

Disposición final

El grano cosechado será procesado en molino para eliminar la viabilidad y así ser incorporado a la cadena industrial y/o agroindustrial.

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.

IV.b.2 Medidas y procedimientos para disminuir el acceso de organismos vectores de dispersión o de personas que no se encuentren autorizadas para ingresar al área de liberación a dichas zona o zonas.

Se delimitara área para evitar el acceso a personal ajeno y/o no autrorizadas como lo muestra la figura 25**.**



Figura 7. Seguridad de entrada en los campos de cultivo.

Ver el siguiente punto.

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

En caso de presentarse una liberación no intencional de la semilla GM en sitios no permitidos, se notificará inmediatamente a las autoridades del SENASICA-SAGARPA. Se deberá recuperar la mayor cantidad posible del material vegetal transgénico; se delimitará y señalizará el área donde ocurrió la liberación no intencional y ésta será controlada de acuerdo con las recomendaciones de bioseguridad la empresa, del SENASICA-SAGARPA y de la PROFEPA-INE-SEMARNAT; se establecerá un programa de monitoreo por un periodo de un año a fin de identificar plántulas provenientes de maíz GM en el área de liberación no intencional, una vez detectadas se procederá a su destrucción. Todas las acciones correctivas adoptadas para resolver la liberación accidental deberán documentarse. Además, se deberá realizar un análisis de la situación para identificar las causas de la liberación no intencional y luego determinar los cambios que sea necesario implementar en las prácticas de manejo para que la situación no se vuelva a presentar.

Revisar Anexo XV. Contreoles e Inicitivas de Bioseguridad en maís de la Estación Experimental Puerto Vallarta (NRSP), Anexo VII. Manual de Buenas Prácticas de Siembra. Manejo del Riesgo.

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

Se propone aislamiento de 200 metros de maíz convencional o aislamiento temporal con 15 días de desfase, asi mismo se propone lo que son barreras físicas por otros cultivos (ejemplo, Sorgo) y madurez Relativa del Cultivo.

a) 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 200 metros (Luna et al. 2001). Los experimentos aquí descritos se sembrarán utilizando como medida de bioseguridad el aislamiento por distancia de 200 metros con respecto a cualquier otro maíz en base a artículos y sustentos que argumentan que el flujo genético entre maíz genéticamente modificado y convencional ocurre en los primeros 50 mt. apartir de la fuente polen, además se reitera que el viento deposita en mayor porcentaje a 25 -50 mts de la fuente y no es considerable que se intercambie polen mas alla de lo normal sobre culauqier otro tipo de maíz incluyendo materiales silvestres (Colombiano Agropecuario, ICA Colombia, en Córdoba 2006); por otro lado se tien la base datos respecto a recomendacioens 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.

b) 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.

Ver inciso h), numeral III.

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

En caso de que ocurriera una liberación no intencional se tomarán las “medidas para la erradicación del OGM en zonas distintas a las permitidas”.

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

Disposición final del OGM.

La semilla remanente que resulte de la limpieza o acondicionamiento será destruida. Los residuos de rastrojo se incorporarán al suelo.

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, 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 ENCUENTRE AL ALCANCE DEL PROMOVENTE:

a) Descripción de la zona donde se realizó la liberación

El evento 1507xMON810xNK603 ha sido aprobado para su liberación al ambiente en Estados Unidos (país de origen) y Canadá.

La legislación en el país de origen no requiere carta de aprobación por la USDA para eventos que se han apilado de manera convencional o tradicional, si los eventos individuales han sido aprobados previamente.

Ver documento de aprobación por la Plant Biosafey Office de la Canadian Food Inspection Agency en el Anexo VIII.

b) Efectos de la liberación sobre la flora y fauna

En cumplimiento del Artículo 42 Fracción III de la LBOGM, PHI México realizó el análisis de riesgo basado en la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias (NIMF) n.° 11 de la FAO (ver documento en el Anexo XIV).

Ver incisos d) y f) del apartado III.

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.

EVENTO DAS-01507-1

En el Anexo V se presenta el documento que contiene el análisis de riesgos presentado en el país de origen: Petition for determination of nonregulated status b.t. Cry1F insect resistant, glufosinate tolerant maize line.

EVENTO MON-00810-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00810-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

EVENTO MON-00603-6

La información confidencial referente al desarrollo del evento MON-00603-6 se encuentra en el compendio de información que la empresa Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. ha presentado a las Secretarías competentes, al cual se ha dado autorización de acceso de acuerdo al oficio presentado en el anexo XIII

d) Otros estudios o consideraciones en los que se analice 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 favorece 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, 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).

El evento DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 confiere protección a las tres principales plagas que atacan al maíz en nuestro país: gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*) y gusano elotero (*Helicoverpa zeae*).

El evento MON-00603-6 incorporado al maíz le confiere tolerancia al herbicida con el ingrediente activo Glifosato, simplificando el control de las malezas al permitir su implementación en lotes donde antes, era extremadamente difícil hacerlo. Entre las principales ventajas del maíz con el evento MON-00603-6 están: la flexibilidad para definir el momento de control, la posibilidad de incrementar el área de maíz en zonas con problemas de malezas, la practicidad operativa y la posibilidad de contar con un "seguro" en el caso de escapes no previstos de alguna maleza.

Los efectos negativos que las malezas ejercen sobre los cultivos pueden mencionarse, entre otros:
- La competencia por agua y nutrientes, que se magnifica en la etapa inicial del cultivo,
- La dificultad para realizar la cosecha,
- La contaminación del maíz cosechado.

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

La legislación en el país de origen (Estados Unidos de Norteamérica) no requiere carta de aprobación por la USDA para eventos que apilados de manera convencional o tradicional, si los eventos individuales han sido aprobados previamente.

La documentación oficial que acredita que los maíces GM DAS-01507-1, MON-00810-6 y MON-00603-6 están desregulados en Estados Unidos, se encuentra disponible públicamente en los siguientes enlaces:

http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs2/00_13601p_com.pdf
http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs2/00_01101p_com.pdf
http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs2/96_01701p_com.pdf

Se anexa (IX) copia simple de la autorización por la USDA para el evento DAS-01507-1.

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

Alternativas Tecnológicas para Contender con la Resistencia a Insectos Lepidópteros.

Las alternativas tecnológicas al evento genéticamente modificado DAS-01507xMON-00810-6xMON-00603-6 para el control de algunos insectos lepidópteros incluyen el manejo de insecticidas, principalmente aquellos que contienen los ingredientes activos de las familias de los organofosforados, carbamatos y piretroides.

Se cuenta actualmente con una gran variedad de marcas en el mercado siendo usualmente la presentación en granulados los de mayor uso para el control de insectos coleópteros.

Organofosforados

Los organofosforados son un grupo de pesticidas artificiales aplicados para controlar las poblaciones plagas de insectos. Los primeros pesticidas organofosforados que se introdujeron al mercado fueron el paratión y el malatión, organofosforados que se consolidaron como insecticidas principalmente agrícolas y su uso se incrementó enormemente con la prohibición del uso de los pesticidas organoclorados.

Los organofosforados son sustancias orgánicas de síntesis, conformadas por un átomo de fósforo unido a 4 átomos de oxígeno o en algunas sustancias a 3 de oxígeno y uno de azufre. Una de las uniones fósforo-oxígeno es bastante lábil y el fósforo liberado de este "grupo libre" se asocia a la acetilcolinesterasa inhibiendo la transmisión nerviosa y provocando la muerte. Sus características principales son su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos, característica que lo posiciona en ventaja con respecto a los organoclorados de baja degradabilidad y gran bioacumulación.

Se han registrado desde hace varias décadas gran cantidad de casos de resistencia de insectos a los organofosforados, debido principalmente al uso excesivo de estos insecticidas. Además, existe resistencia cruzada con los carbamatos. Esto quiere decir que la resistencia a carbamatos trae aparejada resistencia a los organosfosforados, y viceversa. Debido a estos grandes problemas debemos ser en extremo cuidadosos con el uso de estos insecticidas y no sobrecargar al cultivo con los mismos.

Endosulfán, malatión, metamidofos, paratión, lindane, etc. son algunos de los organofosforados que han salido al mercado. Actualmente muchos organofosforados han sido prohibidos en el mundo y continuamente aumenta esta lista.

Carbamatos

Los carbamatos son sustancias orgánicas de síntesis conformadas por un átomo de nitrógeno unido aun grupo lábil, el ácido carbámico. Este tiene un efecto neurotóxico que, en la dosis correspondiente, conlleva a la muerte. Sus características principales son su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos, característica ésta que lo posiciona en ventaja con respecto a los organoclorados de baja degradabilidad y gran acumulación.

Existen muchos casos de resistencia de insectos a carbamatos producto principalmente de un uso excesivo de estos insecticidas. Por otra parte, la resistencia generada por los organofosforados, otro grupo de insecticidas, conlleva resistencia a los carbamatos, y viceversa. Por lo tanto, hay que ser muy cuidadoso en el empleo de los insecticidas y no sobrecargar el cultivo con un solo tipo de insecticida.

Piretroides

Los piretroides son un grupo de pesticidas artificiales desarrollados para controlar preponderantemente las poblaciones de insectos plaga. Este grupo surgió como un intento por parte del hombre de emular los efectos insecticidas de las piretrinas naturales obtenidas del crisantemo, que se venían usando desde 1850.

La obtención de piretrinas sintéticas (denominadas piretroides, es decir, "semejantes a piretrinas"), se remonta a la fabricación de la Aletrina en 1949. Desde ese entonces su uso se ha ido ampliando en la medida en que los demás pesticidas eran acusados de alta residualidad, bioacumulación y carcinogénesis (organoclorados) y por otra parte el alto efecto tóxico en organismos no plaga y en mamíferos (carbamatos y organofosforados). Los piretroides, en cambio, no poseen estas

desventajas y debido a las bajas cantidades de producto necesarias para combatir las plagas su costo operativo es más que conveniente.

Debido a las ventajas antes señaladas, los piretroides son actualmente una de las principales armas elegidas por los productores agropecuarios. Su acción, como casi todos los insecticidas, es a nivel sistema nervioso, generando una alteración de la transmisión del impulso nervioso.

Al contrario de los organoclorados, los carbamatos y los organofosforados, no existen muchos casos de resistencia de insectos a piretroides. Sin embargo, como con todos los insecticidas, es recomendable un uso moderado de los mismos alternando los distintos tipos de insecticidas y usando las cantidades mínimas necesarias.

Aletrina, cypermetrina, permetrina, resmetrina, tetrametrina, etc. son algunos de los piretroides que han salido al mercado

Alternativas Tecnológicas para Contender con la Tolerancia al Herbicida Glifosato.

La alternativa tecnológica para contender con la tolerancia al herbicida con el ingrediente activo glifosato que provee el evento MON-00603-6 corresponde a la aplicación de herbicidas de manera convencional, por ejemplo el herbicida con el ingrediente activo glufosinato.

El glifosato (sal isopropil amina del ácido N fosfonometil glicina) es uno de los herbicidas sistémicos, con un amplio espectro, no selectivo que generalmente es utilizado para matar plantas no deseadas como pastos, hierbas de hoja ancha y leños, ya que presenta alta eficacia controlando esa maleza, a pesar de ello es necesario usar una dosis relativamente alta y las normalmente las aplicaciones son de a por temporada y deben realizarse en un momento oportuno. Es un agroquímico altamente soluble en agua (12 gr/lt a 25°C), que permanece en el agua en estado iónico, se adhiere a partículas orgánicas, persiste de 12 a 60 días en aguas estancadas y su vida media en sedimentos puede variar en alrededor de 120 días aproximadamente.

Referente a los tipos de glifosato o productos alternativos se tiene: ROUNDUP®, Rodea®, Accord®, Kleen up®, entre otros.

En contra parte se tiene que los residuos de los herbicidas que se utilizan comúnmente en la producción de maíz y de soya son frecuentemente detectados en ríos, arroyos y embalses en concentraciones que exceden el estándar para agua potable en las áreas donde estos cultivos se siembran extensivamente.

En un estudio de cuatro años, los investigadores del USDA-ARS North Appalachian Experimental Watershed, cerca de Coshocton, Ohio, compararon las pérdidas relativas de varios tipos de herbicidas en siete pequeñas reservas de agua y llegaron a la conclusión de que los residuos que se filtran a los suelos y al agua por causa de los herbicidas usados en maíz GM fueron mucho menores a las de los herbicidas tradicionales.

Teniendo en cuenta el incremento en la producción de estos cultivos (OGM´s) debido a la demanda creciente de alimento y biocombustibles, lo anterior sugiere a los productores y a las autoridades que las pérdidas de herbicidas y su concentración en los sistemas acuáticos a donde deriva, se pueden reducir con el uso de variedades genéticamente modificadas tolerantes a herbicidas.

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% del total (Brookes G. 2005).

VII) NÚMERO DE AUTORIZACIÓN EXPEDIDA POR SALUD CUANDO EL OGM TENGA FINALIDADES DE SALUD PUBLICA O SE DESTINE A LA BIORREMEDIACIÓN.

La COFEPRIS emitió el 03 de agosto del 2010, el documento aprobatorio para maíz con los eventos apilados DAS-01507-1xMON-00810-6xMON-00603-6 con número de folio 093300913X0014.

Ver Autorización en Anexo X.

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

La propuesta de vigencia del permiso de liberación al ambiente es de un año a partir de la fecha en que se otorgue el permiso para la siembra, debido a que los ciclos de siembra, los movimientos de importación de semilla y los requisitos regulatorios en conjunto suman ese periodo.

ANEXO IV. MÉTODOS DE DETECCIÓN PARA LOS EVENTOS DAS-Ø15Ø7-1 , MON-ØØ81Ø-6 Y MON-ØØ6Ø3-6 DEL LABORATORIO DE REFERENCIA DE LA COMUNIDAD EUROPEA (CRL)

ANEXO V. OPINION OF THE SCIENTIFIC PANEL ON GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS. EFSA: 1507

PETITON FOR DETERMINATION OF NONREGULATED STATUS B.T. CRY1F INSECT RESISTANT, GLUFOSINATE TOLERANT MAIZE LINE

ANEXO VII. MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS MANEJO DEL RIESGO

ANEXO VIII. APROBACIÓN DEL EVENTO Ø15Ø7-1 X MON-ØØ81Ø-6 X MON-ØØ6Ø3-6 POR LA PLANT BIOSAFEY OFFICE DE LA CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY

ANEXO IX. CARTA DE APROBACION DEL EVENTO DAS- Ø15Ø7-1 DE LA USDA.

ANEXO XIV. ANÁLISIS DE RIESGO NIMF N° 11. 1507XMON810XNK603.

ANEXO XVI. PROCESO DE IMPORTACION DE SEMILLA LLEVADO EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE PUERTO VALLARTA (NRSP).