**Información solicitada para la publicación de las Decisiones y**

**Evaluaciones del Riesgo de autorizaciones brindadas en el marco de la Legislación Nacional vigente en el CIISB-BCH Costa Rica**

**En concordancia con el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología, Ley Nacional N°8537, especialmente del artículo 20.**

**La información a publicar será la siguiente con respecto del Anexo I y III del PCSB:**

**A) Información sobre el OVM**

|  |  |
| --- | --- |
| a. Familia: | Malvaceae |
| b. Género: | *Gossypium* |
| c. Especie / Subespecie: | *hirsutum* |
| d. Variedad o línea mejorada: | variedad de algodón Coker 312 |
| e. Nombre común: | Algodón |
| f. Nombre comercial: | Algodón COT102 |
| g. Identificador único del OVM: | SYN-IR102-7 |

**B) Características de la Modificación**

1. **Características del Vector (Anexo III 9 (c)): Características del vector, incluida su identidad, si la tuviera, su fuente de origen y el área de distribución de sus huéspedes;**

El algodón SYN-IR102-7, fue desarrollado por Syngenta, mediante la construcción del plásmido vector binario de *Agrobacterium tumefaciens*, pCOT-1.

Solamente los elementos genéticos comprendidos entre las regiones del borde izquierdo y derecho del plásmido pCOT1, son los que se transfirieron e integraron en el genoma de la célula de la planta, mientras los elementos genéticos fuera de estas regiones borde, no fueron transferidos.

El vector también contiene elementos bien caracterizados de DNA necesarios para la selección y replicación del plásmido en bacterias:

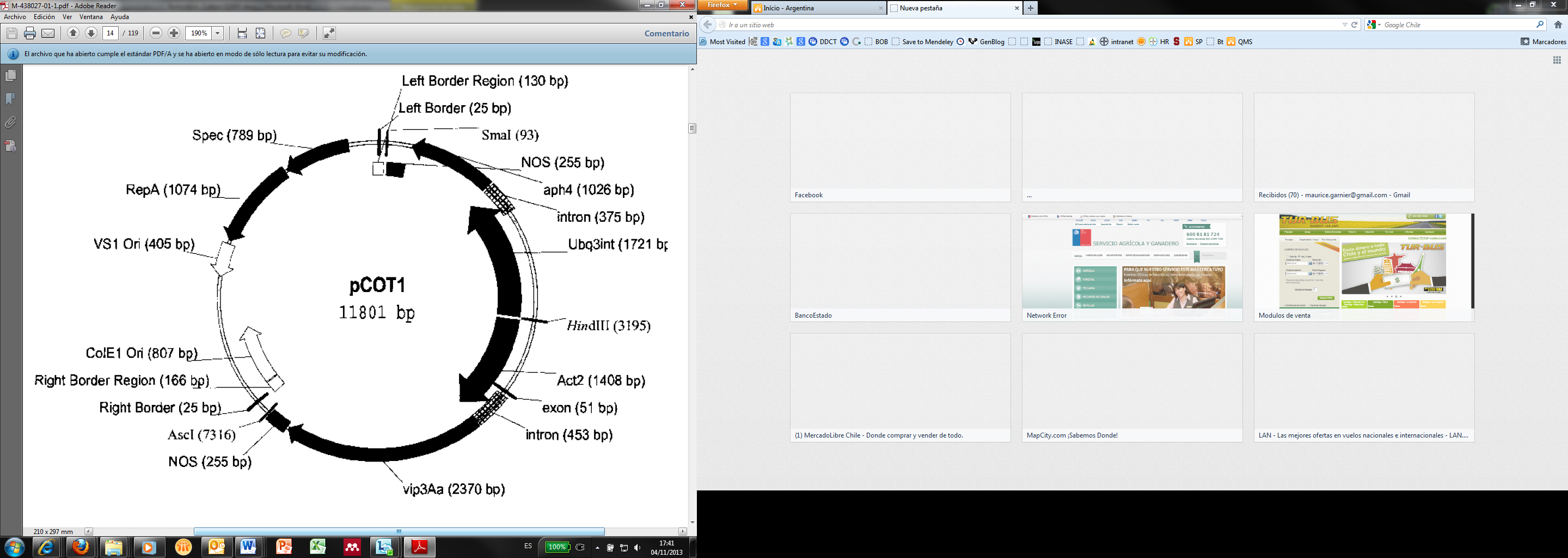
***Spec*** (*streptomycin adenylyltransferase*): Gen marcador de selección (*aadA*) derivado del transposon Tn7, que confiere resistencia a eritromicina, estreptomicina y espectinomicina, para la propagación y selección del plásmido en *Escherichia coli* y *Agrobacterium tumefaciens*.

***VSl Ori***: Origen de replicación del plásmido pVS1 de *Pseudomonas* (**Itoh *et al*., 1984**), el cual funciona como origen de replicación en *Agrobacterium tumefaciens*.

***RepA***: Proteína de replicación pVSl de *Pseudomonas.*

***ColEl Ori***: origen de replicación que permite le replicación del plásmido pCOTl en *Escherichia coli*.

Mapa del vector pCOT-1



1. **Inserto o Insertos (Anexo III 9 (d)): Características genéticas del ácido nucleico insertado y de la función que especifica, y/o características de la modificación introducida;**

Gen **vip3A(a)**, gen sintético diseñado para acomodar el uso del codón preferido y que codifica una secuencia de aminoácidos idéntica a la de la proteína nativa VIP3A de *Bacillus thuringiensis*, con la excepción de una sola sustitución de una lisina por una glutamina en la posición 284. La expresión en planta del gen vip3A(a) se regula corriente arriba por la región promotora (promotor más elementos asociados haciendo un total de 1407 pb) del gen actina-2 de *Arabidopsis thaliana* y corriente abajo por el terminador NOS (extremo 3’ no traducido del gen de la nopalina sintasa de *Agrobacterium tumefaciens*). El promotor confiere expresión constitutiva del gen vip3A(a).

Gen **aph4**, derivado de *Escherichia coli*, usado como marcador de selección y que codifica la enzima APH4. La expresión en planta del gen aph4 es regulada corriente arriba por el promotor más el primer intrón del gen ubiquitina-3 de *Arabidopsis thaliana* y corriente abajo por el terminador NOS 3 (extremo 3’ no traducido del gen de la nopalina sintasa de *A. tumefaciens*).

Origen y función prevista de los elementos genéticos presentes en la región T-DNA del vector pCOT1.

|  |  |
| --- | --- |
| **Elemento**  **Genético** | **Función** |
| **LB** | Borde izquierdo del T-DNA derivado del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* (**Zambryski, 1988**). Los bordes del plásmido se requieren para la transferencia del T-DNA a la célula vegetal, pero no tienen ninguna función en células vegetales. |
| ***3’nos*** | Terminador de la transcripción derivado del gen de la nopalina sintasa de *Agrobacterium tumefaciens*, el cual termina la expresión del gen *aph4* y dirige la poliadenilación (**Bevan et al., 1983**). Esta secuencia no codifica ninguna proteína. |
| ***aph4* (*hph*)** | Gen *aph4* derivado de *Escherichia coli* que codifica la enzima hygromycin B phosphotransferase que cataliza la fosforilación de la higromicina (**Waldron, 1997; Kaster *et al.,*1983**). |
| ***Ubq3int*** | Promotor más el primer intron del gen ubiquitin-3 de *Arabidopsis thaliana* (**Norris *et al,* 1993**). Este promotor dirige la expresión constitutiva del gen *aph4* (*hph*). |
| ***Act2***  **(*Actin 2*)** | Promotor del gen actina-2 de *Arabidopsis thaliana* el cual confiere la expresión constitutiva del gen *vip3Aa19* (*vip3a*). La secuencia del promotor incluye el primer *exon* y el *intron* de la secuencia líder no traducida del gen de la actina-2 (**An *et al.,* 1996**). |
| ***vip3Aa19***  **(*vip3Aa/ vip3a*)** | Versión sintética del gen *vip3Aa19* de la cepa AB88 de *Bacillus thuringiensis* (**Murray *et al*., 1989**) que confiere tolerancia a las plantas de algodón a insectos lepidópteros (**Estruch *et al*., 1996**). |
| ***3’nos*** | Terminador de la transcripción derivado del gen de la nopalina sintasa de *Agrobacterium tumefaciens*, el cual termina la expresión del gen *vip3Aa19* (*vip3a*) y dirige la poliadenilación (**Bevan *et al*., 1983**). Esta secuencia no codifica ninguna proteína. |
| **RB** | Borde izquierdo del T-DNA derivado del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* (**Zambryski, 1988**). Los bordes del plásmido se requieren para la transferencia del T-DNA a la célula vegetal, pero no tienen ninguna función en células vegetales. |

**c. Detección e identificación del OVM (Anexo III 9 (f)): Métodos sugeridos de detección e identificación y su especificidad, sensibilidad y fiabilidad**

Detección Via TaqMan

*Extracción de ADN*

Se extrajo el ADN a partir de tejido de hoja usando el WizardTM Magnetic 96 Planta Sistema de ADN (Promega, # FF3760), de acuerdo con las instrucciones del fabricante, con un paso adicional en el inicio del protocolo: después de la molienda del material de hoja, 0,9 ml de Buffer de Extracción de Algodón (0,2 M Tris pH 8,0, EDTA 50 mM, NaCl 0,25 M, 0,1% v / v 2-mercaptoetanol, 2,5% w / v de polivinilo-pirrolidona) se añadió a cada pocillo, el tejido de la planta resuspendió y la placa se centrifugó a 4000 rpm (2.755 g) durante 10 minutos.

Después de aspirar y de desechar el sobrenadante, se añadieron 300 ul de tampón de lisis A (Promega) y el protocolo de los fabricantes fue seguido desde este punto. Este procedimiento dio lugar a aproximadamente 85 ul de ADN genómico purificado a una concentración de aproximadamente 10 ng / ul.

Reacciones de PCR con TaqMan

Reacciones de PCR con TaqMan se llevaron a cabo utilizando una mezcla que comprende reacción estándar:

- 625 ul 2 × Jumpstart Master Mix para Q-PCR (Sigma, # P2893), suplementado con 15 mM MgCl2 y 200 nM Strata-ROX

- 25 ul 50 × imprimación FAM / mezcla de sondas

- 25 ul 50 × imprimación TET / mezcla de sondas

- 200 ul de agua.

50 × mezclas de estas sondas comprenden 45 ul de cada sonda a una concentración de 1 mM, 50 ul de la sonda a una concentración de 100 uM y 860 ul 1 × TE, y se almacenaron en un tubo de color ámbar a 4 °C.

Las secuencias de las sondas pueden encontrarse en el documento US Patent Application. Los datos se analizaron utilizando el software SDS 2.0 (Applied Biosystems). Ejemplos de secuencias de primers/sonda que se utilizan se muestran a continuación:

|  | | |
| --- | --- | --- |
| Primer Name | Primer Sequence 5′-3′ | SEQ ID |
|  | | |
| GhCH12b-F | GGTCCCTGGATACGGTGTCA | SEQ ID NO: 9 |
| Forward |  |  |
| GhCH12b-R | TTGAGGGTTGGATCCTTTGC | SEQ ID NO: 10 |
| Reverse |  |  |
| GhCH12b-TET | CCAACATCATCAATGGTGGCA | SEQ ID NO: 11 |
| Probe | TCGAAT |  |
|  | (5′ label = TET, |  |
|  | 3′ label = TAMRA) |  |
|  |  |  |
| Hygromycin-F | CAGGCAGGTCTTGCAACGT | SEQ ID NO: 12 |
| Forward |  |  |
| Hygromycin-R | CGAGAGCCTGACCTATTGCAT | SEQ ID NO: 13 |
| Reverse |  |  |
| Hygromycin-FAM | ACACCCTGTGCACGGCGGG | SEQ ID NO: 14 |
| Probe | (5′ label = FAM, |  |
|  | 3′ label = TAMRA) |  |
|  |  |  |
| Vip3-F | ATGAAGACCCTGCGCTACGA | SEQ ID NO: 15 |
| Forward |  |  |
| Vip3-R | ACGCCCAGTGGCATGTAGA | SEQ ID NO: 16 |
| Reverse |  |  |
| Vip3-FAM | AGCGAGGCCGAGTACCGCACC | SEQ ID NO: 17 |
| Probe | (5′ label = FAM, |  |
|  | 3′ label = TAMRA) |  |

7 ul de mezcla maestra se dispensó en cada pozo de una placa de ensayo de 384 pozos TaqMan™ 3 ul de ADN base se añadió a los pozos apropiadamente. 3 ul de la serie de dilución de copia control se añadió a los pozos específicos como control. Las reacciones fueron corridas en un ABI7900 (Applied Biosystems) utilizando las siguientes condiciones de ciclo:

| Paso | Temperaturas | Tiempo |
| --- | --- | --- |
|  |  | |
| 1 | 50° C. | 2 min |  |  |
| 2 | 95° C. | 10 min |  |  |
| 3 | 95° C. | 15 sec |  |  |
| 4 | 60° C. | 1 min |  |  |
| 5 | Ir al paso 3, repita 40 veces |  |  |  |

Los datos se analizaron utilizando el software SDS2.0 (Applied Biosystems).

Referencias:

Chandra *et al*, 2008. Detection and characterization of recombinant DNA expressing vip3A-type insecticidal gene in GMOs*—*standard single, multiplex and construct-specific PCR assays. Anal Bioanal Chem (2008) 390:377–387.

<http://rd.springer.com/article/10.1007/s00216-007-1714-0>

Ellis *et al*. 2010. Detection COT102 TaqManTM. US 2010/0298553 Al. 1-23p.

<http://www.google.com/patents/US20100298553>

**d. Uso previsto (Anexo III 9 (g)): Información acerca del uso previsto del organismo vivo modificado incluido un uso nuevo o distinto comparado con los del organismo receptor o los organismos parentales.**

El uso previsto del algodón COT102 (SYN-IR102-7) es para uso agrícola, para la multiplicación de semilla con resistencia a insectos lepidópteros y su posterior exportación.

**e. Medio receptor (Anexo III 9 (h)): Información sobre la ubicación y las características geográficas, climáticas y ecológicas, incluida información pertinente sobre la diversidad biológica y los centros de origen del probable medio receptor.**

La ubicación del medio receptor es la provincia de Guanacaste, Liberia.

En general, el medio receptor, presenta topografía plana, quizá no sobrepasando más que un 2% de pendiente; por tanto, se da poca variación en el rango de elevación, en promedio se estima en aproximadamente 100 m. Las características climáticas incluyen entre 5-6 meses secos, en tanto la precipitación fluctúa entre 2000 y 4000 mm/año.

Los suelos que constituyen esta área según su orden son Entisoles/Inceptisoles (**ITCR-EIF. 2005**). Con base en la clasificación de **Holdridge (1967)** la siguiente zona de vida se encuentra representada: Bosque húmedo premontano transición a Basal; a su vez, utilizando la clasificación de **Herrera & Gómez (1993)** se presentan para la Unidad Biótica la siguiente provincia de humedad: subhúmeda seca, tropical. A partir del Mapa de Regiones Florísticas **(Hammel, 2004)**, el sitio se ubica en la siguiente unidad fitogeográfica: Llanuras de Guanacaste.



No se conocen especies taxonómicamente relacionadas en el área de la liberación, según una descripción detallada de las plantas asociadas al cultivo de algodón de la Finca María Teresa, previamente elaborado para la UOGM.

No existen siembras de algodón comercial en los alrededores y según informe DB-UOGM- AL- BS.A.004-2013, de acuerdo con la base de datos de la Unidad de Agricultura Orgánica del Servicio Fitosanitario del Estado, no se reportan cultivos orgánicos ni en transición que tengan afinidad filogénica con los cultivos que la empresa Bayer S. A. siembra en la Finca Maria Teresa.

**C) Uso previsto / Objetivo de la introducción del organismo vivo modificado y/o sus productos.**

El objetivo de la introducción del organismo vivo modificado es la liberación al ambiente en apilamiento con otros eventos aprobados, para la multiplicación de semilla con resistencia a insectos lepidópteros y su posterior exportación.

**D) Información sobre la Evaluación del Riesgo**

**a. Una identificación de cualquier característica genotípica y fenotípica nueva relacionada con el organismo vivo modificado que pueda tener efectos adversos en la diversidad biológica y en el probable medio receptor, teniendo también en cuenta los riesgos para la salud humana (Anexo III 8 (a));**

No existen factores observables de riesgo derivados de la presencia de los genes introducidos o de su expresión en el evento SYN-IR102-7. El único cambio presente en la composición de la variedad transgénica derivada del evento de transformación SYN-IR102-7 es el producto del gen vip3(a), la proteína VIP3A, y el producto del gen aph4, la proteína APH4. Según los estudios que demuestran la inocuidad de estas proteínas, no son esperables efectos adversos en la diversidad biológica ni en la salud humana.

**b. Una evaluación de la probabilidad de que esos efectos adversos ocurran realmente, teniendo en cuenta el nivel y el tipo de exposición del probable medio receptor al organismo vivo modificado (Anexo III 8 (b));**

La probabilidad de posible polinización entre la especie mejorada y sus parientes silvestres, sus convencionales o materiales orgánicos vecinos, son poco probables. Según la base de datos del Herbario del Museo Nacional no se han colectado muestras de *G. hirsutum* y *G. barbadense*en este sitio ni en los alrededores. Los cinco sitios de colecta de estas especies reportados en dicha base se encuentran a más de 60 Km de distancia del posible medio receptor.

(<http://ecobiosis.museocostarica.go.cr/especimenes/Buscador.aspx>).

Además de acuerdo con la base de datos de la Unidad de Agricultura Orgánica del Servicio Fitosanitario del Estado, no se reportan cultivos orgánicos a menos de 10 Km alrededor del área de siembra. Tampoco se conocen o reportan otras plantaciones de algodón convencional a menos de 10 Km alrededor del sitio de liberación.

La probabilidad de diferenciación en su potencial como maleza es poco probable. La modificación genética del algodón SYN-IR102-7 no afecta la capacidad de establecimiento, de diseminación, o al modo o tasa de reproducción de la planta. No se espera que la planta se comporte como una mala hierba en hábitats agrícolas, ni invasor en hábitats naturales.

El algodón no es considerado una maleza. No se considera una maleza nociva y no está incluido en la lista de malezas nocivas de los EE. UU. (<http://www.aphis.usda.gov/ppq/weeds/nwpolicy2001.html>), ni está listado como maleza en otras partes del mundo. Para poder obtener descendencia, el cultivo necesita manejos agrícolas **(Munro, 1987)**.

La probabilidad de efectos en organismos no blanco, son poco probables. “Primero, las proteínas Vip3Aa tienen un espectro reducido de actividad pesticida. Segundo, en ensayos de laboratorio de Nivel I, que emplearon un rango de especies invertebradas presentes en los ecosistemas agrícolas de maíz y algodón, o sustitutos para esas especies, se ha demostrado que las proteínas Vip3Aa no causan efectos observables en estas especies. Tercero, en estudios de Nivel I también se demostró que las proteínas Vip3Aa no tienen ningún efecto observable en especies vertebradas ni acuáticas representativas. Cuarto, los niveles de Vip3Aa utilizados en estos ensayos de Nivel I fueron mucho más altos que aquellos medidos en tejidos de maíz y algodón GM cultivados en ese campo. Quinto, en estudios de campo de variedades de maíz y algodón que producen Vip3Aa no se mostraron efectos adversos significativos en la biodiversidad de artrópodos no diana o especies beneficiosas, incluidos los parasitoides de huevos, a pesar de que las poblaciones de depredadores y parásitos específicamente lepidópteros se redujeron levemente. Sexto, al compararlo con el control de insectos mediante Vip3Aa, el control de insectos habitual, que utiliza pesticidas químicos, altera la diversidad de las especies de manera significativa y daña las especies no blanco. En conjunto, estos hallazgos indican que es poco probable que las proteínas Vip3Aa tengan efectos adversos en poblaciones naturales de organismos, excepto por los lepidópteros plaga de cultivo (USDA/APHIS, 2003; Dively, 2005; USDA/APHIS, 2005, 2007; Whitehouse *et al*., 2007; USEPA, 2008, 2009a, 2009b; CFIA, 2010; USDA/APHIS, 2010; Raybould and Vlachos, 2011)**”** **(ILSI-CERA, 2012).**

**c. Una evaluación de las consecuencias si esos efectos adversos ocurriesen realmente (Anexo III 8 (c));**

No es posible suponer un escenario de una posible diferenciación en su potencial como maleza y sus posibles consecuencias, ya que el algodón no es considerado una maleza, y presumir un riesgo en este aspecto sería un contrasentido.

Tampoco es posible suponer un escenario de posibles efectos en organismos no blanco y sus posibles consecuencias eventuales, ya que no ha sido observable un efecto de la proteína VIP3A en organismos no blanco, y presumir un riesgo en este aspecto sería un contrasentido.

**d. Una estimación del riesgo general planteado por el organismo vivo modificado basada en la evaluación de la probabilidad de que los efectos adversos determinados ocurran realmente y las consecuencias en ese caso (Anexo III 8 (d));**

Para que ocurriese polinización entre la especie mejorada y sus parientes silvestres, sus convencionales o materiales orgánicos vecinos serían necesarias varias condiciones:

-Que exista compatibilidad sexual entre la especie con el rasgo nuevo y su pariente silvestre, convencional o material orgánico vecino.

-Que exista traslape en los tiempos de floración.

-Que el polen fuera viable.

-Que el polinizador o el viento que mueva el polen lo haga en las horas en que éste sea viable.

-Que el estigma esté receptivo.

-Que se dé la fecundación.

-Que el híbrido sea fértil.

-Que el híbrido resultante dé origen a una semilla viable.

-Que la planta sobreviva (esté adaptada ecológicamente al ambiente).

-Que la planta herede el rasgo.

La probabilidad de que todas estas condiciones se den es poco probable, más cuando se sabe que no se conocen especies sexualmente compatibles en el área de la liberación, no existen siembras de algodón comercial en los alrededores y no se reportan cultivos orgánicos ni en transición que tengan afinidad filogénica con los cultivos que se siembran.

Nuevamente, el algodón no es considerado una maleza, y la probabilidad de que los efectos adversos determinados ocurran realmente es prácticamente nula.

Tampoco se suponen posibles efectos en organismos no blanco y sus posibles consecuencias eventuales, ya que no ha sido observable un efecto de la proteína VIP3A en dichos organismos, y la probabilidad de que los efectos adversos determinados ocurran realmente es prácticamente nula.

**e. Una recomendación sobre si los riesgos son aceptables o gestionables o no, incluida, cuando sea necesaria, la determinación de estrategias para gestionar esos riesgos (Anexo III 8 (e)); y**

Se puede considerar, que el riesgo de liberación para el algodón COT102, **no supone un riesgo significativo para la salud humana y/o el medio ambiente**. A su vez, ya existe experiencia a nivel de país en la liberación de éste rasgo, por parte de las autoridades y el sistema regulatorio.

**f. Cuando haya incertidumbre acerca del nivel de riesgo, se podrá tratar de subsanar esa incertidumbre solicitando información adicional sobre las cuestiones concretas motivo de preocupación, o poniendo en práctica estrategias de gestión del riesgo apropiadas y/o vigilando al organismo vivo modificado en el medio receptor (Anexo III 8 (f)).**

Para subsanar posibles incertidumbres, motivo de preocupación, algunas estrategias de gestión de riesgo que actualmente se realizan con otros materiales regulados son:

* Presencia de barreras vegetativas en el perímetro de las áreas de siembra.
* Recolección de material viable remanente.
* Uso de equipos cerrados específicos para la cosecha y trasporte de semilla de algodón.
* Vigilancia del material viable en cada etapa del proceso, incluyendo en pos-cosecha.

Además de lo señalado, se cuenta con protocolos de Bioseguridad en los que se estipulan las medidas a seguir en cada paso del proceso, desde el arribo de la semilla al país hasta su cosecha y exportación. Además, todo el personal involucrado en las actividades con material regulado es capacitado para asegurar el cumplimiento de estos protocolos.

**E) Sitios web en donde se puede acceder información detallada sobre la evaluación del riesgo o la manera en la que esta puede ser accesada y sitios web en donde pueda encontrarse información de liberaciones anteriores.**

<http://bch.cbd.int/database/record.shtml?documentid=14992>

<http://en.biosafetyscanner.org/schedaevento.php?evento=122>

ILSI-CERA. 2012. Revisión de la Seguridad Ambiental de Vip3Aa. International Life Sciences Institute, Center for Environmental Risk Assessment, Washington, D.C.

<http://cera-gmc.org/docs/cera_publications/pub_03_2012.pdf>

Estruch, J.J., G.W. Warren, M.A. Mullins, G.J. Nye, J.A. Craig and M.G. Koziel. 1996. Vip3A, a novel Bacillus thuringiensis vegetative insecticidial protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 5389-5394.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC39256/pdf/pnas01512-0226.pdf>

**F) Información Adicional**

**a. Otra información que sea relevante o de interés.**

Historial de liberaciones previas:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **País** | **Tipo de autorización** | **Fecha de**  **autorización** | **Número de**  **Permiso** |
| Australia | Consumo humano | 17/02/2005 | A509 |
| Nueva Zelanda | Consumo humano | 17/02/2005 | A509 |
| Canada | Consumo animal | 25/03/2011 | DD2011-84 |
| Canada | Consumo humano | 13/04/2011 | Health Canada  2011-04-13 |
| Japon | Cultivo, Importación y  Procesamiento | 04/09/2012 | JPDSYN-IR-102-7 |
| Mexico | Cultivo, consumo humano y animal, procesamiento | 20/01/2010 | ND |
| Estados Unidos de America | Liberación al ambiente,  importación, movilización | 06/07/2005 | ND |
| Korea del Sur | Cultivo, consumo humano | 05/08/2014 | ND |
| Taiwan | Consumo humano | 05/08/2015 | ND |

Con relación al manejo agronómico, la adopción de algodón biotecnológico resistente a insectos ha contribuido a la adopción de mejores prácticas agrícolas que han redundado en importantes beneficios económicos y ambientales:

* Mayor espectro de control de insectos lepidópteros plaga.
* Aumento de rendimiento debido al control efectivo de las plagas blanco que atacan al cultivo.
* Reducción significativa en el uso de insecticidas químicos.
* Disminución de la contaminación del suelo y mantos freáticos al utilizar insecticidas con menor impacto ambiental.
* Menor impacto en las poblaciones de insectos benéficos y otros organismos no blanco, debido a su especificidad y a que los únicos insectos expuestos a las toxinas son aquellos que se alimentan de los cultivos.
* Compatibilidad con prácticas de manejo integrado de plagas (MIP).
* Reducción de la emisión de gases de efecto invernadero (disminución en el uso de combustibles necesarios para la fabricación, transporte y aplicación de insecticidas).

**Además se ha solicitado incluir una lista de las combinaciones de los eventos que se manejan en cada empresa, es decir, una lista de los “combos”, “apilamientos” o “stacks” manejados por cada compañía en la actualidad referidos de la siguiente manera: Si son dos eventos combinados: Identificador único x Identificador único; si son eventos combinados con variedades diferentes a las de los permisos originales estipulados para los identificadores únicos: Identificador único x Variedades.**

Bayer S.A. aún no maneja apilados con el evento COT-102 en el país.

**REFERENCIAS**

An, A.Q., McDowell, J.M. Huang, S., McKinney, E.C., Chambliss, S., Meagher, R.B. 1996. Strong, constitutive expression of the Arabidopsis ACT2/ACT8 actin subclass in vegetative tissue. Plant J. 10 (1): 107-121

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-313X.1996.10010107.x/epdf>

Bevan, M., Barnes, W.M. y Chilton, M.D. 1983. Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T-DNA. Nucl. Acid Res. 11(2): 369-385.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC325720/pdf/nar00347-0139.pdf>

Chandra *et al*, 2008. Detection and characterization of recombinant DNA expressing vip3A-type insecticidal gene in GMOs*—*standard single, multiplex and construct-specific PCR assays. Anal Bioanal Chem (2008) 390:377–387.

<http://rd.springer.com/article/10.1007/s00216-007-1714-0>

Ellis *et al*. 2010. Detection COT102 TaqManTM. US 2010/0298553 Al. 1-23p.

<http://www.google.com/patents/US20100298553>

Estruch, J.J., G.W. Warren, M.A. Mullins, G.J. Nye, J.A. Craig and M.G. Koziel. 1996. Vip3A, a novel Bacillus thuringiensis vegetative insecticidial protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 5389-5394

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC39256/pdf/pnas01512-0226.pdf>

Hammel et al. (eds.). 2004. Manual de Plantas de Costa Rica. Vol. I: Introducción. Monogr. Syst. Bot. Gard. 97: 1-299.

<https://archive.org/stream/mobot31753003136642#page/n5/mode/2up>

Herrera, W; Gómez, L. D. 1993. Mapa de unidades bióticas de Costa Rica. San José, CR, US Fish & Wildlife Service / The Nature Conservancy / INCAFO / Centro de Datos para la Biología de la Conservación de Costa Rica / INBio / Fundación Gómez-Dueñas. Escala 1: 685.000.

Libro: Costa Rica Ecosystem: Ver Capítulo 2: Climate of Costa Rica.(19-29):

<https://books.google.co.cr/books?id=My-7CwAAQBAJ&pg=PA17&dq=Herrera,+W%3B+G%C3%B3mez,+LD.+1993.+Mapa+de+unidades+bi%C3%B3ticas+de+Costa+Rica+publicaci%C3%B3n&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=2#v=onepage&q=Herrera%2C%20W%3B%20G%C3%B3mez%2C%20LD.%201993.%20Mapa%20de%20unidades%20bi%C3%B3ticas%20de%20Costa%20Rica%20publicaci%C3%B3n&f=false>

Holdridge, L. R. 1967. Life Zone Ecology. Tropical Science Center, San José, Costa Rica. 206 p.

<http://reddcr.go.cr/sites/default/files/centro-de-documentacion/holdridge_1966_-_life_zone_ecology.pdf>

<http://bch.cbd.int/database/record.shtml?documentid=14992>

<http://en.biosafetyscanner.org/schedaevento.php?evento=122>

Itoh, Y., Watson, J., D., H., & Leisinger, T. (1984). Genetic and molecular characterization of the *Pseudomonas* plasmid pVS1. *Plasmid, 11*, 206.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0147619X84900271>

ILSI-CERA. 2012. Revisión de la Seguridad Ambiental de Vip3Aa. International Life Sciences Institute, Center for Environmental Risk Assessment, Washington, D.C.

<http://cera-gmc.org/docs/cera_publications/pub_03_2012.pdf>

ITCR-EIF. 2005. Atlas Digital de Costa Rica 2004. Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Cartago, Costa Rica.

<http://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/3139/infor_proyecto_atlas2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Kaster, K.R.; Burgett, S.G., Rao, R.N. and Ingolia, T.D. 1983. Analysis of a bacterial hygromycin B resistance gene by transcriptional and translational fusions and by DNA sequencing. Nuc. Acids Res. 11 (19), 6895-6911

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC326422/pdf/nar00364-0311.pdf>

Munro, J. 1987. Cotton. John Wiley and Sons Inc., eds. pp. 27-64, 93-105, 147-184, 210-265.

<https://books.google.com/books?id=1lUjAQAAMAAJ&dq=editions:ISBN0582463467&hl=es>

Murray E.E., J. Lotwer and M. Eberle. 1989. Codon usage in plants genes. Nucl. Acid Res. 17:477-498.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC331598/pdf/nar00211-0013.pdf>

Norris SR, Meyer SE, Callis J. 1993. The intron of Arabidopsis thaliana polyubiquitin genes is conserved in location and is a quantitative determinant of chimeric gene expression. Plant Molecular Biol. 21 (5): 895-906.

<http://scholar.google.co.cr/scholar?q=Norris+SR,+Meyer+SE,+Callis+J.+1993.+The+intron+of+Arabidopsis+thaliana&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholart&sa=X&ved=0ahUKEwjIroO3h9zSAhVGziYKHZUhDTIQgQMIFzAA>

Waldron, C. 1997. United States Patent No. 5.668.298. Selectable marker for development of vectors and transformation systems in plants.

<https://www.google.ch/patents/US5668298>

Zambryski P. 1988. Basic processes underlying Agrobacterium-mediated DNA transfer to plant cells. Ann. Rev. Genet. 22. 1-30.

<http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.ge.22.120188.000245>