



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES
PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

RESUMEN

EVALUACIÓN DEL RIESGOS DE LA SOLICITUD DEL CERTIFICADO DE LIBERACIÓN AL
AMBIENTE, USO CONFINADO O COMERCIALIZACIÓN DE LA VARIEDAD DE PETUNIA
GENÉTICAMENTE MODIFICADA *BALL A1-DFR (Petunia hybrida)* (SOLANACEAE), PARA LA
SIEMBRA EN USO CONFINADO

Fecha:

25 de abril de 2024.

Material para liberarse en el sitio seleccionado:

- ✓ *Petunia x hybrida*, genéticamente modificada. Identificador único: **No disponible**. Característica introducida: conteniendo los genes A1 dihidroflavonol 4- reductasa, que expresa las enzimas DFR y que le confiere(n) producción de la antocianina pelargonidina. Con el único objetivo de producir semillas de plantas ornamentales de petunias con colores anaranjados para exportación.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

Tabla de contenido

1	OBJETIVO GENERAL	4
2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3	METODOLOGÍA	4
4	INFORMACIÓN ESPECÍFICA DEL ORGANISMO DONADOR, VECTOR Y RECEPTOR DE LOS GENES O SECUENCIAS GENÉTICAS	5
4.1	Organismo receptor de los genes o secuencias genéticas.....	5
4.2	Organismos donadores de los genes o secuencias genéticas.....	6
4.2.1	Organismo donador del gen <i>A1 DFR</i>	6
4.2.2	Organismo donador del gen <i>NPTII</i>	7
4.3	Organismo vector de transformación	8
5	DESCRIPCIÓN DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR DEL SISTEMA DONANTE-VECTOR-RECEPTOR EN LA GENERACIÓN DEL EVENTO	8
5.1	Descripción general de los plásmidos de transformación	8
5.2	Mapa de los plásmidos de transformación.....	9
5.3	Descripción de los elementos de los plásmidos de transformación.....	9
5.4	Descripción de los elementos de los plásmidos de transformación que se han insertado en el genoma de la petunia.....	10
5.5	Otras regiones de los vectores de transformación que se han insertado en el genoma de la petunia	11
6	INFORMACIÓN GENERAL DE LA PETUNIA GENÉTICAMENTE MODICADA	11
6.1	Descripción general de la morfología y fenotipo de la petunia, tomando en cuenta las diferencias con su homólogo convencional	11
6.2	Patrón de herencia de la característica incorporada por los genes principales....	11
6.3	Estabilidad fenotípica de la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR.....	12
6.4	Descripción general de la biología reproductiva y fenología de la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR, tomando en cuenta las diferencias con su homólogo convencional	12
6.5	Descripción de los mecanismos de propagación, mecanismos de dispersión de frutos, semillas y propágulos, periodos y condiciones de vida latente o dormancia de semillas o propágulos, tomando en cuenta las diferencias con su homólogo convencional	12
6.6	Método de detección e identificación de la petunia Ball A1-DFRI	13
7	INFORMACIÓN DEL MEDIO RECEPTOR.....	13
7.1	Área circundante.....	13



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8	EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS.....	15
8.1	Metas de protección	15
8.2	Meta de protección 1: Protección a la salud humanan o animal por motivos de inocuidad	15
8.2.1	Posibles efectos adversos para la salud humanan o animal.....	15
8.3	Meta de protección 2: Protección fitosanitaria del país por flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes	19
8.3.1	Posible flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes.....	19
8.4	Meta de protección 3: Protección de la biodiversidad, organismos no blancos ...	23
8.4.1	Posibles efectos adversos en organismos no blancos	23
8.5	Meta de protección 4: Protección de las actividades agrícolas	26
8.5.1	Posibles efectos adversos en la agricultura por comportamiento de maleza	26
8.5.2	Posibles efectos adversos en las actividades agrícolas de <i>Petunia</i> convencional.....	29
8.5.3	Posibles efectos adversos en las actividades agrícolas orgánicas	31
8.6	Meta de protección 5: Protección de otras actividades productivas	34
8.6.1	Posibles efectos adversos en las actividades apícolas.....	34
8.6.2	Posibles efectos adversos en otras actividades productivas debido a la salida y uso no autorizado de materiales de petunia	36
9	POR TANTO	40
10	LITERATURA CITADA.....	41



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES
PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

1 OBJETIVO GENERAL

Realizar la valuación de riesgos de la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR, de conformidad con el anexo III del Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología, tomando en cuenta el uso previsto, las valoraciones técnicas de los medios receptores y otras pruebas científicas disponibles para determinar y evaluar los posibles efectos adversos del cultivo de la petunia para el ambiente, la agricultura y la salud humana y animal. De manera que se pueda determinar, sobre la base de una fundamentación científico-técnica, los riesgos identificados, las estrategias de gestión de los riesgos, así como las medidas de bioseguridad y seguimiento que se aplicarán, de ser necesario, en la ejecución de los proyectos de siembra.

2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar las características genotípicas y fenotípicas nuevas relacionadas con la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR, 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.
2. Evaluar la probabilidad de que los posibles efectos adversos ocurran realmente, teniendo en cuenta el nivel y el tipo de exposición de los medios receptores de la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR.
3. Evaluar las consecuencias de si los posibles efectos adversos identificados ocurriesen realmente.
4. Estimar el riesgo general planteado por la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR, con base en la evaluación de la probabilidad de que los posibles efectos adversos identificados ocurran realmente y las consecuencias en ese caso.
5. Recomendar si los riesgos identificados son aceptables o gestionables o no, incluida, cuando sea necesaria, la determinación de las estrategias para gestionar dichos riesgos.

3 METODOLOGÍA

Se utilizó como metodología la guía que tipifica el Protocolo de Cartagena en su anexo III: Evaluación del Riesgo. Esta guía consiste en identificar los posibles impactos negativos del OVM, tanto en la salud humana y animal, como en el ambiente. Se hizo un listado de estos posibles impactos y para cada uno de ellos se indicó la probabilidad de ocurrencia, las posibles consecuencias en caso de que se diera el impacto, una estimación del riesgo general mediante una matriz de estimación cualitativa del riesgo, condiciones para la



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

liberación al ambiente y, en casos necesarios, la determinación de las estrategias para gestionar los riesgos identificados.

4 INFORMACIÓN ESPECÍFICA DEL ORGANISMO DONADOR, VECTOR Y RECEPTOR DE LOS GENES O SECUENCIAS GENÉTICAS

4.1 Organismo receptor de los genes o secuencias genéticas

El organismo receptor de los genes o secuencias genéticas es la petunia *Petunia x hybrida* específicamente la variedad denominada Ball A1-DFR, cuya taxonomía es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Commelinidae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Petunia*

El género *Petunia* tiene actualmente 21 especies reconocidas. Estas plantas pertenecen a la familia Solanacea. La petunia, mejor conocida como petunia de jardín es un híbrido ornamental ampliamente cultivado alrededor del mundo. En la actualidad existe una pluralidad muy amplia de colores y tamaños de la flor. El mercado de sus semillas representa un importante recurso económico para muchos países.

La *Petunia hybrida*, se deriva de un cruce entre *Petunia integrifolia* X *Petunia axillaris* ambas endémicas de Suramérica.

Como se mencionó anteriormente el género *Petunia* es endémico de Suramérica. La mayor riqueza de especies se encuentra en Brasil (13), seguido de Argentina (5), Uruguay, Paraguay y Bolivia (2). Todas las especies se encuentran en Brasil, excepto *P. occidentalis*, que tiene una distribución discontinua restringida a las montañas sub andinas en el noroeste de Argentina y el sur de Bolivia (Gerats & Strommer 2008).

El cultivo de petunia incluye hierbas perennes o anuales, erectas, postradas o decumbentes. Con flores simples o dobles, con pétalos de bordes ondulados y rectos. Las hojas se disponen de forma alterna y opuesta, alargadas o redondeadas y de bordes enteros. Presentan una vellosidad algo pegajosa (Pérez et al. 2022).

La petunia se puede propagar vegetativamente, mediante la corta de brotes, en el caso de producción comercial. Sin embargo, a nivel natural la planta no produce órganos tales como estolones, rizomas, brotes de raíces, tubérculos, cormos o estolones que le permitan dispersarse. También las plantas de petunia se pueden reproducir por medio de la producción de semillas, que constituye el principal medio de propagación comercial, donde



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

se usa el polen para fecundar el estigma y producir las semillas en invernaderos cerrados con condiciones controladas (Griesbach 2006).

Las petunias naturalmente tienen como pigmentos las antocianinas derivadas de la cianidina y la delphinidina, pero no tienen los derivados de la pelargonina, esto es debido a una especificidad de sustrato de la enzima dihydroflavonol 4-reductasa de la petunia, la cual no reduce el dihydrohykaempferol. Las petunias A1-DFR (petunia anaranjada) han sido modificadas genéticamente para que expresen el gen A1 dihydroflavonol 4-reductasa donado por *Zea mays* el cual permite la codificación de la dihydroquercetina 4- reductasa, la cual puede reducir el dihydrohykaempferol y por lo tanto mediar la biosíntesis de la antocianina pelargonidina (Meyer et al. 1987). Debido a esto las plantas muestran en el fenotipo, colores anaranjados y rojos en las flores que antes no se habían visto en petunia convencional. El resto de las características propias de una petunia regular se mantienen sin cambios.

4.2 Organismos donadores de los genes o secuencias genéticas

Las transformaciones genéticas que presentan las plantas de petunia genéticamente modificada A1 DFR (petunia anaranjada) se presentan a continuación.

Cuadro 1. Descripción detallada las transformaciones a las que fueron sometidas las plantas de petunia genéticamente modificadas.

Elemento genético	Producto de expresión		Actividad Biológica
A1 DFR gen	dihydroflavonol 4-reductasa (A1)		Convierte la dihydroquercetina en leucocianidina que conduce a la producción de derivados de cianidina en la aleurona del maíz
NPTII	Enzima fosfotransferasa II	neomicina	Confiere resistencia a Kanamicina

Fuente: (Meyer et al. 1987)

4.2.1 Organismo donador del gen A1 DFR

El organismo donador del gen A1 DFR es *Zea mays*, cuya taxonomía es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Commelinidae



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *Z. mays* L.

El maíz (*Zea mays*), es un miembro de la tribu Maydeae de la familia de las gramíneas, Poaceae. Es una planta robusta monocotiledónea anual, requiere la ayuda del hombre para dispersar sus semillas, para su propagación y supervivencia (OECD 2003).

Mangelsdorf (1974), como se citó en OECD, 2003, propone que el maíz no tiene un centro de origen, pero sí varios En México y América del sur debido a evidencias arqueológicas encontradas en México y las evidencias morfológicas de la población de América del Sur. El maíz es la planta más eficiente para captar la energía del sol y convertirla en alimento, tiene una gran plasticidad adaptándose a condiciones extremas y diferentes de humedad, luz solar, altitud y temperatura (OECD 2003).

El gen que codifica la A1 dihidroflavonol 4-reductasa permite la producción de la antocianina pelargonidina. Por lo tanto, la producción de pelargonidina conduce a fenotipos de flores de color naranja y rojo (Bashandy 2017).

4.2.2 Organismo donador del gen *NPTII*

El organismo donador del gen *NPTII* es el tabaco *Nicotiana tabacum*, cuya taxonomía es la siguiente:

Dominio: Bacteria

Filo: Pseudomonadota

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacterales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Escherichia*

Especie: *E. coli* Escherich

E. coli, un anaerobio facultativo Gram-negativo, no esporulante, es un habitante de los intestinos y heces de animales de sangre caliente y reptiles. Aunque las bacterias anaeróbicas en el intestino superan en número a *E. coli* por 100/1 a 10,000/1, *E. coli* es el organismo aeróbico predominante en el tracto gastrointestinal. Dado que *E. coli* puede transitar por el agua y los sedimentos, a menudo se utiliza como indicador de la contaminación fecal del agua; utilizando cálculos intuitivos, se ha estimado que la mitad de la población de *E. coli* reside en estos hábitats secundarios (Tenaillon et al. 2010).

El gen beta-lactamasa forma parte del vector, pero es una secuencia parcial por lo que se espera que no sea funcional (Westhoff Vertriebsgesellschaft 2019).



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

El gen neomicina fosfotransferasa NPTII, este gen es usado para selección y como marcador de plantas transgénicas, no tendrán efecto sobre la propagación de resistencia a los antibióticos en el medio ambiente (Westhoff Vertriebsgesellschaft 2019).

Cómo se citó en Tenaillon et al. 2010, en 1984, Ochman y Selander establecieron una colección de Cepas de *E. coli* aisladas de heces de humanos sanos y de animales de un zoológico de varias localidades ubicados en Estados Unidos y Suecia. Esta colección ha sido distribuida ampliamente por el mundo y usada como sustrato para ensayos y análisis.

4.3 Organismo vector de transformación

La petunia se desarrolló mediante la transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, cuya taxonomía es la siguiente:

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Proteobacteria alfa

Orden: Rhizobiales

Familia: Rhizobiaceae

Género: *Agrobacterium*

Especie: *A. tumefaciens* (Smith & Townsend) Conn.

Agrobacterium tumefaciens es una bacteria del suelo, gramnegativa, que infecta a las plantas en lugares donde hay heridas y produce la enfermedad de las agallas de la corona. Afecta a una amplia gama de especies vegetales, fundamentalmente dicotiledóneas. Las agallas son protuberancias tumorales que se producen en los lugares donde *Agrobacterium* ha introducido en las células de las plantas un plásmido de ADN que se inserta y modifica el genoma de la planta huésped y de esta manera induce el desarrollo de tumores. La capacidad de transmisión e inserción de ADN por *Agrobacterium* se usó para producir la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR.

5 DESCRIPCIÓN DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR DEL SISTEMA DONANTE-VECTOR-RECEPTOR EN LA GENERACIÓN DEL EVENTO

5.1 Descripción general de los plásmidos de transformación

El vector de transformación p35A1 (Figura 1) tiene una longitud de 8 kb y contiene el promotor 35S de CaMV (virus del mosaico de la coliflor), el gen de la dihidroflavonol 4-reductasa (A1) de maíz, la secuencia de terminación 35S de CaMV, la región promotora de la nopalina sintasa (pnos), la neomicina fosfotransferasa (NPTII)- que confiere resistencia a la kanamicina (Kmr), la octopina sintasa (ocs) poli A- región terminadora de la nopalina sintasa. El promotor CaMV35S es un promotor constitutivo utilizado para proporcionar altos niveles de expresión génica. El gen nptII es el gen marcador de resistencia a antibióticos más utilizado para la producción de plantas modificadas genéticamente (Goldstein et al. 2005). Codifica la enzima neomicina fosfotransferasa tipo II (NPTII), que le confiere resistencia a los



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

antibióticos kanamicina y neomicina. NPTII fosforila la kanamicina y la neomicina haciéndolas inactivas. Las células modificadas genéticamente que contienen el gen NPTII pueden crecer en presencia del antibiótico, mientras que se inhibe el crecimiento de las células no modificadas. El gen NPTII funciona como un marcador seleccionable durante el desarrollo de la petunia modificada genéticamente. El ADNc A1 (ácido desoxirribonucleico complementario) del maíz es un gen de dihidroflavonol 4-reductasa que convierte la dihidroquercetina en leucocianidina, lo que conduce a la producción de derivados de cianidina en la aleurona del maíz.

5.2 Mapa de los plásmidos de transformación

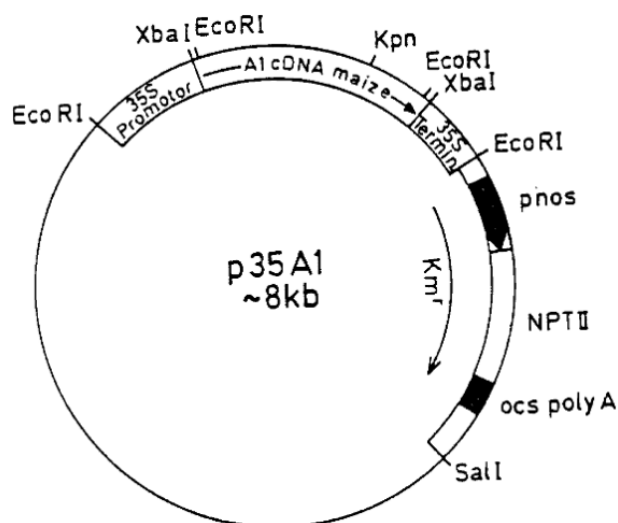


Figura 1. Mapa del plásmido de transformación p35A1. Imagen proporcionada por el solicitante.

5.3 Descripción de los elementos de los plásmidos de transformación

Cuadro 2. Descripción de los elementos de los plásmidos de transformación.

Nombre del Gen/Elemento genético	Posición en el vector o construcción	Tamaño en pares de bases	Organismo donante	Función/Actividad Biológica
beta-lactamase	1/(CAGAA...AGAA T)	620 bp	<i>Escherichia coli</i>	Estructural
35S Promoter	621/(TCCCA...GA TCC)	1168 bp	<i>Cauliflower mosaic virus</i>	Estructural



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

A1 cDNA maize	1184/(CTGCT...TA TCT)	2364 bp	<i>Zea mays</i>	Convierte la dihidroquercetina en leucocianidina que conduce a la producción de derivados de cianidina en la aleurona del maíz
transposon Cin4-1	2372/(GTTTG...CAATT)	2497 bp	<i>Zea mays</i>	Estructural
35S Terminator	2528/(GTCGA...AGCTC)	2753bp	<i>Cauliflower mosaic virus</i>	Estructural
lacUV5 promoter	2754/(GAATT...AACAG)	2853 bp	<i>Escherichia coli</i>	Estructural
pnos	2854/(GATCA...C AGAT)	3144bp	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Estructural
NPTII	3152/(ATGAT...C CCTG)	4131 bp	<i>Escherichia coli</i>	gen marcador de resistencia a antibióticos
ocs	4132/(CTTTA...AT GAT)	4398 bp	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Estructural

5.4 Descripción de los elementos de los plásmidos de transformación que se han insertado en el genoma de la petunia

Cuadro 3. Descripción de los elementos de los plásmidos que se han insertado en el genoma de la petunia.

Gen/Elemento genético	Producto de expresión (proteína u otro)	Función /Actividad biológica	Mecanismo molecular detallado	Tejido/Órgano donde se expresa	Nivel de expresión (datos cuantitativos)
A1 DFR gen	dihidroflavonol 4-reductasa (A1)	Enzima en la ruta biosintética de antocianinas	Reseña y la referencia Meyer et al. 1987	Hojas y Flores	ND
nptII gen	Enzima neomicina fosfotransferasa II	Confiere resistencia a Kanamicina	Permite que las plantas transformadas metabolizan los antibióticos neomicina y	ND	ND



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

			kanamicina durante la selección.		
--	--	--	----------------------------------	--	--

5.5 Otras regiones de los vectores de transformación que se han insertado en el genoma de la petunia

Cuadro 4. Descripción de otras regiones de los vectores de transformación que se han insertado en el genoma de la petunia y que no forman parte del “casete” de expresión.

Región	Tamaño en pares de bases	Donante	Función en el OVM y mecanismo molecular detallado
No hubo otras inserciones	NA	NA	NA

6 INFORMACIÓN GENERAL DE LA PETUNIA GENÉTICAMENTE MODIFICADA

6.1 Descripción general de la morfología y fenotipo de la petunia, tomando en cuenta las diferencias con su homólogo convencional

La petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR se ha modificado genéticamente para expresar el gen A1 dihidroflavonol 4-reductasa de *Zea mays* que permite la producción de la antocianina pelargonidina. Por lo tanto, la producción de pelargonidina conduce a fenotipos de flores de color naranja y rojo que antes no se habían visto en petunia convencional.

El cultivo de petunia incluye hierbas perennes o anuales, erectas, postradas o decumbentes. Con flores simples o dobles, con pétalos de bordes ondulados y rectos. Las hojas se disponen de forma alterna y opuesta, alargadas o redondeadas y de bordes enteros. Presentan una vellosidad algo pegajosa. La petunia se puede propagar vegetativamente para la producción comercial mediante la corta de brotes, o por producción de semilla el cual usa el polen para fecundar el estigma y producir las semillas. El resto de las características propias de una petunia regular se mantienen sin cambios.

6.2 Patrón de herencia de la característica incorporada por los genes principales

Herencia mendeliana. En el trabajo realizado por Oud et al. (1995) seleccionaron dos transformantes (MPI-15 y MPI-17) fueron cruzado con las líneas de cultivo L2134 (rosa), L2124 (rosa), F5 (salmón) e Y1 (roja) de S&G Seeds. Se hizo una recombinación usando la



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

línea transgénica tanto macho como hembra con las cuatro líneas élite seleccionadas. Las flores de la progenie F1 resultante no eran anaranjadas, debido a la presencia del alelo dominante del compañero de cruce. Varias plantas F1 de cada descendiente recombinante fueron autopolinizados y en las poblaciones F2, plantas con una flor color naranja fueron encontrados. Los resultados revelaron que la dihidroflavonol 4-reductasa de maíz (A1) el gen se segrega y sigue la herencia mendeliana.

6.3 Estabilidad fenotípica de la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR

La estabilidad fenotípica de las líneas A1-DFR (naranja petunia) se ha demostrado durante múltiples generaciones de reproducción. Ball ha desarrollado varias líneas de reproducción parental que contienen el rasgo de flor de naranja. Esas líneas parentales se seleccionan por una variedad de rasgos fenotípicos importantes, incluido el color naranja brillante de la flor. Diferentes líneas parentales a menudo requieren diferentes esquemas de reproducción para lograr las características deseables. Una vez establecidas, las líneas parentales pueden usarse para la producción de semillas híbridas experimentales o comerciales. El análisis genético se lleva a cabo para verificar la presencia del gen A1-DFR tanto en las líneas parentales como en las híbridas y se demuestra que se hereda de manera estable.

6.4 Descripción general de la biología reproductiva y fenología de la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR, tomando en cuenta las diferencias con su homólogo convencional

Petunia incluye hierbas perennes o anuales, erectas, postradas o decumbentes. Con flores simples o dobles, con pétalos de bordes ondulados y rectos. Las hojas se disponen de forma alterna y opuesta, alargadas o redondeadas y de bordes enteros. Presentan una vellosoidad algo pegajosa. La petunia se puede propagar vegetativamente para la producción comercial mediante la corta de brotes, o por producción de semilla el cual usa el polen para fecundar el estigma y producir las semillas. No hay diferencias con su homólogo convencional Pérez et al. (2022).

6.5 Descripción de los mecanismos de propagación, mecanismos de dispersión de frutos, semillas y propágulos, periodos y condiciones de vida latente o dormancia de semillas o propágulos, tomando en cuenta las diferencias con su homólogo convencional

La petunia se puede propagar vegetativamente para la producción comercial, pero la planta no produce órganos tales como estolones, rizomas, brotes de raíces, tubérculos, cormos o estolones que le permitan dispersarse. La producción de semilla se hace en invernadero cerrados con condiciones controladas donde no hay presencia de posibles polinizadores por lo que no hay riesgo de esparcimiento. Petunia no se cruza con otros géneros. Incluso con *Calibrachoa*, el más relacionado de los géneros, los cruces no tienen éxito Wijsman (1983),



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

citado en Westhoff Vertriebsgesellschaft (2019). Por lo tanto, no hay posibilidad de la dispersión de los transgenes por flujo de genes mediado por polen a otros géneros.

La mayoría de las plantas de petunia dan semillas. Muy pocas variedades pueden mostrar fertilidad limitada o incluso esterilidad femenina. A pesar de estas condiciones, la petunia no se ha convertido en maleza en los EE. UU. ni en ningún otro lugar, que se sepa (Gerats & Strommer 2008).

6.6 Método de detección e identificación de la petunia Ball A1-DFRI

En el artículo de Haselmair-Gosch et al. (2018), se desarrolla un método de detección molecular de la petunia Ball A1-DFRI

7 INFORMACIÓN DEL MEDIO RECEPTOR

7.1 Área circundante

El medio receptor se ubica en la provincia de Cartago, en el cantón del Guarco. El cantón del Guarco es el cantón N°8 de la provincia de Cartago, su cabecera es El Tejar. Limita al noroeste, norte, noreste, este y sureste con el cantón de Cartago, al sur y suroeste con el Cantón de Dota y al oeste con el cantón de Desamparados (Figura 2). Las coordenadas geográficas medias del cantón de están dadas por 09° 43'57" latitud Norte y 83° 54'51" longitud Oeste, el cantón del Guarco cuenta con cuatro distritos El Tejar, Tobosi, San Isidro y Patio de agua.

El uso de suelo del cantón esta mayormente conformado por actividades agrícolas y zonas de conservación.

Entre las actividades económicas de mayor importancia en el cantón de El Guarco se identifican la actividad pecuaria, la agricultura y la Industria. En la región se concentran importantes actividades agrícolas intensivas de alta rentabilidad y dirigidas a la exportación, que son principalmente la floricultura y el cultivo de helechos. Estas producciones agrícolas emplean gran cantidad de mano de obra.

Cuadro 5. Información general de los distritos del cantón del Guarco.

Distrito	Altura (msnm) ^a	Área (km ²) ^b	Poblados ^a
El tejar	1 377	6,06	Asunción, Barahona, Barrio Nuevo, Colonia, Chavarría, Sabana, Sabana Grande, San Rafael, Santa Gertrudis, Sauces, Silo, Viento Fresco, Pitahaya



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

San Isidro	1 388	129,68	Guatuso, Higuito, Potrerillos, Altamiradas, Alto San Francisco, Bajo Gloria, Bajos de León, Barrancas, Cangreja, Cañón, Casablanca, Casamata, Cascajal, Conventillo, Cruces, Cruz, Chonta, Damita, Dos Amigos, Empalme, Esperanza, Estrella, Guayabal, La Luchita, La Paz, Macho Gaff, Montserrat, Ojo de Agua, Palmital, Palmital Sur, Palo Verde, Paso Macho, Purires, Salsipuedes, San Cayetano, Surtubal, Tres de Junio, Vara del Roble
Tobosi	1 380	21,12	Achiotillo, Barrancas, Bodocal, Garita, Purires, Tablón
Patio de Agua	1 960	10,83	Bajo Zopilote, Caragral, Común

Fuente: ^a (Costa Rica Poder Ejecutivo, 2009), ^b (Ministerio de Planificación Nacional y Política Económica & PNUMA, 2009)



Figura 2. Mapa político del cantón del Guarco, Cartago.

Fuente: (Instituto Geográfico Nacional, s.f.)



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES
PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8 EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS

8.1 Metas de protección

Para el análisis de riesgos de la petunia genéticamente modificada se establecieron las siguientes metas de protección:

1. Protección a la salud humanan o animal por motivos de inocuidad.
2. Protección fitosanitaria del país por flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes.
3. Protección de la biodiversidad, organismos no blancos.
4. Protección de las actividades agrícolas.
5. Protección de otras actividades productivas.

8.2 Meta de protección 1: Protección a la salud humanan o animal por motivos de inocuidad

8.2.1 Posibles efectos adversos para la salud humanan o animal

Para evaluar los posibles efectos para la salud humanan o animal se parte de la siguiente premisa:

El cultivo de petunias A1-DFR (*Petunia hybrida*) que contiene los genes *A1 DFR* que codifica una dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), que transforma el dihidrokaempferol en leucopelargonidina que eventualmente se transforma en pelargonidina de color rojo y *nptII* que codifica para una neomicina fosfotransferasa II que otorga tolerancia a kanamicina y neomicina, podría tener un aumento de toxicidad en términos de inocuidad.

8.2.1.1 Identificación del potencial daño a la Meta

Cambios en la inocuidad del cultivo por la inserción de las secuencias genéticas.

8.2.1.2 Hipótesis de prueba

La modificación genética resulta en cambios fenotípicos o agronómicos que pueden llevar a cambios nutricionales y efectos en la inocuidad en comparación con el cultivo no modificado.



8.2.1.3 Ruta al daño

Paso 1. La característica introducida ocasiona un cambio nutricional o de inocuidad en un producto de consumo animal, humano o procesamiento.

Paso 2. El animal o humano tiene una exposición a la proteína, metabolito o característica novedosa en condiciones de cultivo o consumo en una concentración en la cual le puede ocasionar efectos adversos.

Paso 3. El consumo o exposición tiene efecto adverso.

Paso 4. Se genera un daño cuantificable.

8.2.1.4 Análisis del Paso 1 a la ruta al daño. La característica introducida ocasiona un cambio nutricional o de inocuidad en un producto de consumo animal, humano o procesamiento

Las características de la modificación son conocidas y **no ocasionan** cambios a nivel de inocuidad, toxicidad o alergenicidad (BCH 2024), por lo que la ruta al daño **se concluiría en este paso**, sin embargo, se continuará con el análisis para efectos de documentación.

La presencia de pelargonidina C₁₅H₁₁O₅, 271.247 g/mol, es común en alimentos como la fresa (pelargonidina-3-glucósido) y el rábano (pelargonidina-3-soforósido 5-glucósido acilada con ácidos aromáticos y alifáticos) (Garzón 2008) y es un colorante común en alimentos y uso industrial (U.S. EPA 2024). Aún ante exposición por consumo involuntario no se espera un efecto negativo.

El donador del gen A1-DFR es el maíz, el producto génico activo del gen A1 es una dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), que transforma el dihidrokaempferol en leucopelargonidina (Figura 2). Este último se metaboliza aún más dando como resultado un color de flor rojo salmón debido a la síntesis de pelargonidina. La actividad génica es dependiente del grado de metilación del promotor 35S cadena arriba (Meyer et al. 1992). Los estudios de Griesbach (1993), demostraron que hubo un aumento en la producción de pigmentos florales (antocianinas) en las petunias modificadas genéticamente en comparación con las petunias no modificadas genéticamente, así como un cambio de las proporciones relativas de los componentes de un solo pigmento dependiendo de la prevalencia de factores ambientales, sino también sobre las características individuales de la planta. La tasa de actividad y / o el patrón de metilación no suponen ningún riesgo para el medio ambiente ni para la salud humana o animal. Las enzimas y sustratos de esta vía metabólica son de **naturaleza muy común y existen, por ejemplo, en el maíz**. Incluso en el caso de un **consumo involuntario** de cantidades altas de dihidroflavonol-4-reductasa y el pigmento de flores resultante por parte de animales o humanos, **no se esperarían efectos perjudiciales para su salud** (Bashandy et al. 2017; USDA-APHIS 2019).



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES
PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

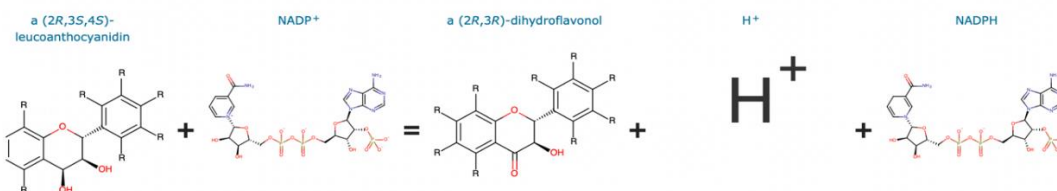


Figura 3. Esquema de la reacción química $(2R,3S,4S)\text{-leucoanthocyanidin} + \text{NADP}^+ = \alpha\text{ (2R,3R)-dihydroflavonol} + \text{H}^+ + \text{NADPH}$.

El cambio de color en las petunias A1-DFR no causa cambios en el conjunto de semillas, la disponibilidad de polen, el hábito de crecimiento, las tolerancias de temperatura u otros factores que alterarían el lugar donde se puede cultivar o el potencial de maleza en comparación con las variedades de petunia actualmente disponibles (USDA-APHIS 2020).

Sobre las secuencias de genes de antibióticos, en su declaración de diciembre de 2008, el Comité Central en Seguridad Biológica (ZKBS, por sus siglas en alemán) de Alemania realizó un informe sobre los genes marcadores de resistencia a antibióticos en plantas modificadas genéticamente en la evaluación de la seguridad de este tipo de plantas. La ZKBS llegó a la conclusión de que los eventos de transferencia horizontal de genes de plantas modificadas genéticamente a otros organismos, si es que ocurren, serían insignificantes en comparación con los procesos naturales de transmisión y nueva formación de genes de resistencia y la presencia natural de los genes de resistencia en cuestión en comunidades naturales de microorganismos (ZKBS 2008). En su declaración, la ZKBS también declaró que, especialmente, el gen *nptII* se propagaría ampliamente en bacterias del suelo y Enterobacteriaceae. En este contexto, se puede suponer que la presencia del gen *nptII* en el genoma de las petunias modificadas genéticamente no afectará a la propagación de este gen de resistencia a los antibióticos en el medio ambiente. La evaluación de la ZKBS llega a la misma conclusión que las evaluaciones de la EFSA realizadas en los años 2004 a 2007 (EFSA 2007), según las cuales la EFSA no percibió ningún riesgo para los seres humanos, los animales o el medio ambiente cuando se utiliza *nptII* como gen marcador en genéticamente modificado.

El gen *nptII* en petunias A1-DFR se derivó de la bacteria *Escherichia coli*. El gen *nptII* (y / o secuencias homólogas de otras bacterias) se encuentra naturalmente en las comunidades microbianas del suelo, el estiércol y la flora intestinal normal de los animales (EFSA 2007; Smalla et al. 1993), por lo tanto, los animales están expuestos regularmente a la enzima NPTII codificado por estos genes.

Tomando en cuenta que la enzima NPTII confiere resistencia a kanamicina, neomicina y antibióticos similares (EFSA 2007), el gen *nptII* se insertó como marcador seleccionable en las etapas iniciales para identificar células modificadas durante la modificación genética de petunias A1-DFR (Westhoff 2019). Se han realizado varias evaluaciones de riesgo para NPTII (Fuchs et al. 1993; EFSA 2004), ninguna ha reportado riesgos para la vida silvestre o el medio ambiente como resultado de la exposición o el consumo de NPTII. La FDA revisó y aprobó



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

NPTII para su uso como aditivo en varios alimentos utilizados para el consumo humano (US-FDA 1994). Así mismo, se debe señalar que el gen *nptII* está presente en muchas plantas modificadas genéticamente aprobadas para su liberación comercial en los Estados Unidos y otros países (Rosellini 2012).

8.2.1.5 Análisis del Paso 2 a la ruta al daño. El animal o humano tiene una exposición a la proteína, metabolito o característica novedosa en condiciones de cultivo o consumo en una concentración en la cual le puede ocasionar efectos adversos

Este paso no aplica puesto que se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en el punto 10.2.1.4 de este documento.

8.2.1.6 Análisis del Paso 3 a la ruta al daño. El consumo o exposición tiene efecto adverso.

Este paso no aplica puesto que se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en el punto 10.2.1.4 de este documento.

8.2.1.7 Análisis del Paso 4 a la ruta al daño. Se genera un daño cuantificable.

Este paso no aplica puesto que se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en el punto 10.2.1.4 de este documento.

8.2.1.8 Matriz de estimación cualitativa del riesgo

Cuadro 6. Matriz de estimación del riesgo de los posibles efectos adversos para la salud humana o animal.

		ESTIMACIÓN DEL RIESGO			
PROBABILIDAD	Muy Alta	BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
	Alta	BAJO	BAJO	MODERADO	ALTO
	Baja	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO	MODERADO
	Muy Baja	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIA	MAYOR
CONSECUENCIA					

Considerando la información aportada en el BIO-02, documentos anexos, la valoración técnica del medio receptor y otras pruebas científicas disponibles, se puede determinar que la posibilidad de ocurrencia de cambios en la composición del cultivo que genere un cambio en la inocuidad por la inserción de las secuencias genéticas es **baja**.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

Así mismos, las consecuencias para la salud humana o animales generados por los cambios en la composición del cultivo debido a la inserción de las secuencias genéticas son **marginales**.

De esta manera, se concluye que el riesgo de posibles efectos adversos para la salud humana o animal, debido a cambios en la inocuidad del cultivo por la inserción de las secuencias genéticas, es **insignificante**.

No se recomiendan medidas de gestión asociadas a esta meta de protección.

8.3 Meta de protección 2: Protección fitosanitaria del país por flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes

8.3.1 Posible flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes

Para evaluar el flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes se parte de la siguiente premisa:

El cultivo de petunias A1-DFR (*Petunia hybrida* (Hook.) que contiene los genes *A1 DFR* que codifica una dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), que transforma el dihidrokaempferol en leucopelargonidina que eventualmente se transforma en pelargonidina de color rojo y *nptII* que codifica para una neomicina fosfotransferasa II que otorga tolerancia a kanamicina y neomicina, podría resultar en problemas agronómicos en el manejo del cultivo o ambientales como resultado de persistencia de parientes silvestres o cultivados que adquieren las características del cultivo modificado por flujo de polen.

8.3.1.1 Identificación del potencial daño a la Meta

Flujo de polen a parientes silvestres o cultivados que genere problemas agronómicos en el manejo del cultivo o introgresión de genes en parientes silvestres que adquieren las características del cultivo modificado.

8.3.1.2 Hipótesis de prueba

La característica sufre introgresión en parientes compatibles sexualmente y resulta en cambios que incrementan la persistencia de los híbridos o causa efectos en la diversidad genética de las poblaciones de pariente silvestres que sufrieron introgresión de genes.



8.3.1.3 Ruta al daño

Paso 1. La planta GM debe producir polen.

Paso 2. El polen se dispersa en el ambiente y debe llegar hasta poblaciones nativas o silvestres compatibles.

Paso 3. Se genera la hibridación o polinización.

Paso 4. El híbrido debe sobrevivir y generar descendencia que contenga la modificación genética y esta característica debe darle alguna ventaja para persistir.

Paso 5. El pariente cultivado debe ocasionar pérdida por problemas de venta de los productos debido a la introgresión genética.

Paso 5. El pariente silvestre debe ocasionar pérdida por costos en manejo, desplazamiento del cultivo por impasividad o las poblaciones sufren pérdida de diversidad genética.

8.3.1.4 Análisis del Paso 1 a la ruta al daño. La planta GM debe producir polen

Petunia produce polen de un diámetro menor a 20um (Howard. *Petunia*, Pollen wall; Moore et al. 1991) que permanece estable en viabilidad por 6 horas al 80% si la humedad se mantiene a 75% manteniendo su contenido de agua por encima del 13%. Sin embargo, la viabilidad cae al 50% si baja la humedad al 30% y su contenido interno a 6% (Nepi et al. 2010) (Figura 4).



Figura 4. Imagen en microscopio de polen de *Petunia* y curvas de viabilidad de dicho polen (Nepi et al. 2010).

8.3.1.5 Análisis del Paso 2 a la ruta al daño. El polen se dispersa en el ambiente y debe llegar hasta poblaciones nativas o silvestres compatibles

La dispersión del polen es posible mediado por insectos y el cruce entre materiales distintos es posible, aunque requiere de mucho trabajo de fitomejoramiento (Milicia et al. 2021). Sin embargo, la empresa solicitante utilizará como medida de gestión un invernadero cerrado y con acceso restringido donde no hay presencia de posibles polinizadores por lo que no hay



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

riesgo de esparcimiento del polen, además, no existen poblaciones nativas o silvestres de *Petunia* en Costa Rica, los reportes que existen en la región son de Honduras (Molina 1975), Colombia (Idárraga-Piedrahita et al. 2011) y México (Villaseñor 2016).

El sitio Tropicos.org presenta la siguiente distribución geográfica de estos reportes con ausencia de reportes en Costa Rica (Figura 5). Ahora bien, aunque existen híbridos artificiales (Watanabe 1996) y naturales (Lorenz-Lemke et al. 2006; Segatto et al. 2014; Turchetto et al. 2015), las petunias disponen de auto incompatibilidad gametofítica (Linskens 1975) y un variable grado de autoincompatibilidad con especies silvestres (Ando 1998).

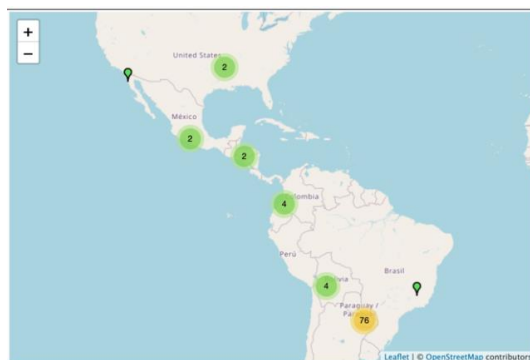


Figura 5. Distribución geográfica del género *Petunia* según la base de datos Tropicos.org.

Un elemento clave de la **incompatibilidad** que presenta *Petunia* es que el pistilo produce una enzima S-RNAasa que es dañina para la producción de ARN de cualquier polen. Cada grano de polen que entra en contacto con el pistilo tiene su propio conjunto de proteínas. Si el polen es de una planta es genéticamente diferente, sus proteínas destruyen la enzima del pistilo. Al eliminar la enzima que degrada el ARN, el tubo polínico puede seguir creciendo. Sin embargo, si el polen proviene del mismo linaje genético que el pistilo, el polen carecerá de la proteína adecuada para combatir la enzima destructora de ARN del pistilo. En esta situación, la enzima causará daños en la funcionalidad del polen y evitará que el tubo polínico siga creciendo. La fertilización no podrá ocurrir. En 1994, el laboratorio de Kao identificó un gen en las petunias que codifica la enzima que destruye el ARN en el pistilo, S-RNAasa. En 2004, el mismo laboratorio encontró otro gen en el lado masculino, en el polen, que interactúa con la proteína del pistilo (Meng et al. 2011).

Así mismo, es poco posible la polinización cruzada en materiales de jardinería que se encuentren en los alrededores del sitio de ensayo, géneros *Petunia* ($2n=2x= 14$) o *Calibrachoa* ($2n=2x= 18$). Esta posibilidad está limitada en tiempo y espacio dado que el ensayo se realiza en un invernadero cerrado y controlado donde la empresa declara que no hay presencia de posibles polinizadores por lo que no hay riesgo de flujo de genes a parientes silvestres o cultivados.

Por las razones expuestas en los párrafos anteriores, **se considera que la ruta al daño se concluye en este paso.**



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES
PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

Cuadro 7. Datos de colecta de *Petunia* más cercanos a Costa Rica según la base de datos *Tropicos.org*.

Collector	Coll No	Scientific Name	Country	Date	Family
Clare, Tatiana	115	<i>Petunia hybrida</i> E. Vilm.	Honduras	27-Aug-78	Solanaceae
Zelaya, Lorena	259	<i>Petunia hybrida</i> E. Vilm.	Honduras	23-Oct-78	Solanaceae
Moran, Reid Venable	27858	<i>Petunia parviflora</i> Juss.	Mexico	21-Jul-79	Solanaceae
Hinton, George Boole	5848	<i>Petunia parviflora</i> Juss.	Mexico	28-Mar-34	Solanaceae
Hinton, George Boole	5848	<i>Petunia parviflora</i> Juss.	Mexico	28-Mar-34	Solanaceae
Hinton, George Boole	5547	<i>Petunia parviflora</i> Juss.	Mexico	26-Jan-34	Solanaceae
Gutierrez, Carlos Alberto	19	<i>Petunia</i> × <i>hybrida</i> hort. ex E. Vilm.	Colombia	6-Oct-91	Solanaceae
Gutierrez, Carlos Alberto	19	<i>Petunia</i> × <i>hybrida</i> hort. ex E. Vilm.	Colombia	6-Oct-91	Solanaceae
Callejas Posada, Ricardo	11447	<i>Petunia violacea</i> Lindl.	Colombia	18 Junio 1995	Solanaceae

8.3.1.6 Análisis del Paso 3 a la ruta al daño. Se genera la hibridación o polinización

Este paso no aplica puesto que, al establecer medidas de gestión del riesgo tal como el uso de un invernadero cerrado para realizar el ensayo, se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en el punto 10.3.1.5 de este documento.

8.3.1.7 Análisis del Paso 4 a la ruta al daño. El híbrido debe sobrevivir y generar descendencia que contenga la modificación genética y esta característica debe darle alguna ventaja para persistir

Este paso no aplica puesto que, al establecer medidas de gestión del riesgo tal como el uso de un invernadero cerrado para realizar el ensayo, se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en el punto 10.3.1.5 de este documento.

8.3.1.8 Análisis del Paso 5 a la ruta al daño. El pariente cultivado debe ocasionar pérdida por problemas de venta de los productos debido a la introgresión genética

Este paso no aplica puesto que, al establecer medidas de gestión del riesgo tal como el uso de un invernadero cerrado para realizar el ensayo, se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en el punto 10.3.1.5 de este documento.

8.3.1.9 Análisis del Paso 6 a la ruta al daño. El pariente silvestre debe ocasionar pérdida por costos en manejo, desplazamiento del cultivo por impasividad o las poblaciones sufren pérdida de diversidad genética

Este paso no aplica puesto que, al establecer medidas de gestión del riesgo tal como el uso de un invernadero cerrado para realizar el ensayo, se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en el punto 10.3.1.5 de este documento.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.3.1.10 Matriz de estimación cualitativa del riesgo

Cuadro 8. Matriz de estimación del riesgo de los posibles efectos adversos provocados por el flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes.

		ESTIMACIÓN DEL RIESGO			
PROBABILIDAD	Muy Alta	BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
	Alta	BAJO	BAJO	MODERADO	ALTO
	Baja	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO	MODERADO
	Muy Baja	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIA	MAYOR
		CONSECUENCIA			

Considerando la información aportada en el BIO-02, documentos anexos, las valoraciones técnicas de los medios receptores y otras pruebas científicas disponibles, se puede determinar que la posibilidad de ocurrencia de flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes es **muy baja**.

Así mismos, las consecuencias para los parientes silvestres o cultivados que reciben polen de petunia podrían ser **menores**.

De esta manera, se concluye que el riesgo de posibles efectos adversos provocados por el flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes es **Insignificante**. Sin embargo, se deben establecer medidas de mitigación, tal como mantener un nivel de confinamiento del cultivo que permitan mantener en niveles insignificantes la posibilidad de flujo de genes en materiales de jardinería que se encuentren en los alrededores del sitio de ensayo.

8.4 Meta de protección 3: Protección de la biodiversidad, organismos no blancos

8.4.1 Posibles efectos adversos en organismos no blancos

Para evaluar los posibles efectos adversos en organismos no blancos se parte de la siguiente premisa: El cultivo de petunias A1-DFR (*Petunia hybrida*) que contiene los genes A1 DFR que codifica una dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), que transforma el dihidrokaempferol en leucopelargonidina que eventualmente se transforma en pelargonidina de color rojo y nptII que codifica para una neomicina fosfotransferasa II que otorga tolerancia a kanamicina y neomicina, podría resultar en efectos adversos sobre organismos no blanco en comparación con el cultivo no modificado.

8.4.1.1 Identificación del potencial daño a la Meta

Daño a la biodiversidad por efectos adversos sobre organismos no blanco en comparación con el cultivo no modificado.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES
PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.4.1.2 Hipótesis de prueba

La modificación genética resulta en cambios fenotípicos o agronómicos que pueden llevar a efectos adversos sobre organismos no blanco o especies de interés en áreas de cultivo comparado con el cultivo no modificado.

8.4.1.3 Ruta al daño

Paso 1. La característica introducida ocasiona un aumento de mortalidad en el organismo no blanco luego de una exposición a la proteína o característica introducida a una concentración conocida.

Paso 2. El organismo no blanco tiene exposición a la proteína o característica en condiciones de cultivo a la concentración en la cual le ocasiona mortalidad o afectación.

Paso 3. La cantidad de organismo no blanco aumenta significativamente la mortalidad o afectación.

Paso 4. Se genera un daño cuantificable de la población de organismos no blanco.

8.4.1.4 Análisis del Paso 1 a la ruta al daño. La característica introducida ocasiona un aumento de mortalidad en el organismo no blanco luego de una exposición a la proteína o característica introducida a una concentración conocida.

La polinización en *Petunia* ocurre mediante abejas, polillas y colibrís (Knapp 2010; Gübitz et al. 2009). Aunque hoy, se sabe que las petunias tienen un alto grado de especialización, en particular, abejas solitarias del género *Pseudagapostemon* son las más frecuentes en la especie *Petunia secreta*, las polillas en *Petunia axillaris* y colibrís en *Petunia exserta* (Rodrigues et al. 2018).

Dado que el ensayo se realiza en un invernadero cerrado, con acceso restringido y puntos de entrada controlados, donde la empresa declara que no hay presencia de posibles polinizadores u otros organismos no blancos, por lo que no hay posibilidad de exposición de las enzimas que codifica la petunia GM. De esta forma, **la ruta al daño se concluye en este paso**, sin embargo, se continuará con el análisis con el fin de tener más elementos que sustenten la ruptura de la ruta al daño.

8.4.1.5 Análisis del Paso 2 a la ruta al daño. El organismo no blanco tiene exposición a la proteína o característica en condiciones de cultivo a la concentración en la cual le ocasiona mortalidad o afectación

Cómo se mencionó anteriormente, presencia de pelargonidina C₁₅H₁₁O₅, 271.247 g/mol, es común en alimentos como la fresa (pelargonidina-3-glucósido) y el rábano (pelargonidina-3-soforósido 5-glucósido acilada con ácidos aromáticos y alifáticos) (Garzón 2008) y es un colorante común en alimentos y uso industrial (U.S. EPA). Aún ante exposición



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

de un organismo no blanco, tal como polinizadores o herbívoros, no se espera un efecto negativo. De esta manera se refuerza nuevamente que **la ruta al daño se concluye entre el paso 1 y 2.**

8.4.1.6 Análisis del Paso 3 a la ruta al daño. La característica introducida ocasiona un aumento de mortalidad en el organismo no blanco luego de una exposición a la proteína o característica introducida a una concentración conocida

Este paso no aplica puesto que, al establecer medidas de gestión del riesgo tal como el uso de un invernadero cerrado, con acceso restringido y entradas controladas, para realizar el ensayo, se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en los puntos 10.4.1.4 y 10.4.1.5 de este documento.

8.4.1.7 Análisis del Paso 4 a la ruta al daño. Se genera un daño cuantificable de la población de organismos no blanco

Este paso no aplica puesto que, al establecer medidas de gestión del riesgo tal como el uso de un invernadero cerrado, con acceso restringido y entradas controladas, para realizar el ensayo, se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en los puntos 10.4.1.4 y 10.4.1.5 de este documento.

8.4.1.8 Matriz de estimación cualitativa del riesgo

Cuadro 9. Matriz de estimación del riesgo de los posibles efectos en organismos no blanco

		ESTIMACIÓN DEL RIESGO			
		BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
PROBABILIDAD	Muy Alta	BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
	Alta	BAJO	BAJO	MODERADO	ALTO
	Baja	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO	MODERADO
	Muy Baja	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIA	MAYOR
		CONSECUENCIA			

Considerando la información aportada en el BIO-02, documentos anexos, la valoración técnica del medio receptor y otras pruebas científicas disponibles, se puede determinar que la posibilidad de ocurrencia de flujo de polen hacia parientes silvestres o cultivados que pudiera generar introgresión de genes es **muy baja**.

Así mismos, las consecuencias para los organismos no blanco que se exponen a la *Petunia* GM podrían ser **Marginales**.

De esta manera, se concluye que el riesgo de posibles efectos adversos sobre organismos no blanco es **insignificante**.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES
PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.5 Meta de protección 4: Protección de las actividades agrícolas

8.5.1 Posibles efectos adversos en la agricultura por comportamiento de maleza

Para evaluar los posibles efectos adversos en la agricultura por comportamiento de maleza se parte de la siguiente premisa:

El cultivo de petunias A1-DFR (*Petunia hybrida*) que contiene los genes A1 DFR que codifica una dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), que transforma el dihidrokaempferol en leucopelargonidina que eventualmente se transforma en pelargonidina de color rojo y nptII que codifica para una neomicina fosfotransferasa II que otorga tolerancia a kanamicina y neomicina, podría resultar en problemas de manejo agronómicos como resultado de un aumento de persistencia o un aumento de invasividad comparado con el cultivo no modificado.

8.5.1.1 Identificación del potencial daño a la Meta

Aumento en el costo del manejo agronómicos como resultado de un aumento de persistencia comparado con el cultivo no modificado (maleza en el cultivo).

8.5.1.2 Hipótesis de prueba

La modificación genética resulta en cambios fenotípicos o agronómicos que pueden llevar a un aumento de la persistencia en áreas de cultivo.

8.5.1.3 Ruta al daño

Paso 1. La característica introducida tiene algún indicio de persistencia al compararlo con un cultivo no modificado (germinación de semilla, vigor, tiempo de floración, viabilidad de polen, dormancia).

Paso 2. El cultivo produce semillas o material reproductivo capaz de sobrevivir la cosecha.

Paso 3. La semilla o material reproductivo debe sobrevivir, generar descendencia que contenga la modificación genética y esta característica debe darle alguna ventaja para persistir.

Paso 4. El cultivo ocasiona pérdida por costos en manejo, desplazamiento de cultivos o pérdidas económicas por la persistencia.

8.5.1.4 Análisis del Paso 1 a la ruta al daño. La característica introducida tiene algún indicio de persistencia al compararlo con un cultivo no modificado (germinación de semilla, vigor, tiempo de floración, viabilidad de polen, dormancia)

El rasgo introducido (color de flor) en petunias A1-DFR (*Petunia hybrida*) no afecta su aptitud,



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

los estudios de campo con petunias A1-DFR muestran ausencia de diferencias significativas en la tolerancia al calor o al frío, la susceptibilidad a enfermedades e insectos, ni ninguna diferencia aparente en el atractivo de las flores de petunia A1-DFR (polen, néctar) para los polinizadores (Westhoff 2019). Los ensayos de liberación al ambiente de 2016 y 2017 realizados por la Universidad Estatal de Ohio, la Universidad Estatal de Colorado y la estación de ensayos hortícolas Bad Zwischenahn (Alemania) no mostraron diferencias entre las petunias convencionales y las petunias A1-DFR para todos los rasgos estudiados (USDA-APHIS 2020).

El cambio de color en las petunias A1-DFR no causa cambios en el conjunto de semillas, la disponibilidad de polen, el hábito de crecimiento, las tolerancias de temperatura u otros factores que podrían tener un efecto negativo en el medio receptor o el potencial de maleza en comparación con las variedades de *Petunia* convencionales actualmente disponibles (USDA-APHIS 2020). No se esperaría que el cultivo de petunias A1-DFR impacte directa, indirecta o acumulativamente los recursos biológicos de manera diferente al cultivo de las variedades actuales de petunia.

Al **no tener características de comportamiento de malezas** la ruta al daño estaría concluida y su comportamiento sería el mismo que el del convencional. Se continuará con la ruta al daño para efectos de documentación.

8.5.1.5 Análisis del Paso 2 a la ruta al daño. El cultivo produce semillas o material reproductivo capaz de sobrevivir la cosecha

Esto es posible debido a que el cultivo produce semillas. Sin embargo, las semillas de *Petunia* normalmente no germinan, sino que entran en reposo y requiere de almacenamiento o tratamientos como ácido giberélico y exposición a frío, para que pueda germinar de manera correcta (INDER 2017). Esto significa que la viabilidad de eventuales plantas voluntarias estaría comprometida en tiempo y persistencia.

La persistencia de los materiales fuera del invernadero sin el acompañamiento humano sería poco probable dado que son cultivos que requieren de cuidado. En otros países se pueden encontrar de manera espontánea petunias en zonas urbanas pero las mismas tienden a desaparecer y por tanto no se consideran una especie invasora (Hilty 2017).

En esta meta de protección, al **no tener características de comportamiento de malezas** la ruta al daño estaría concluida desde el primer paso, dado que su comportamiento sería el mismo que el del convencional.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.5.1.6 Análisis del Paso 3 a la ruta al daño. La semilla o material reproductivo debe sobrevivir, generar descendencia que contenga la modificación genética y esta característica debe darle alguna ventaja para persistir

Los genes *A1 DFR* y *nptII* introducidos no confieren ninguna característica de malezas a las petunias A1-DFR; confieren solo el color de la flor a través del gen *A1 DFR* y el rasgo marcador de resistencia a antibióticos a través de *nptII*. Por lo tanto, al **no tener características de comportamiento de malezas** la ruta al daño estaría concluida por no darle ninguna **ventaja para persistir en comparación con una *Petunia* convencional**.

8.5.1.7 Análisis del Paso 4 a la ruta al daño. El cultivo ocasiona pérdida por costos en manejo, desplazamiento de cultivos o pérdidas económicas por la persistencia

Este paso no aplica puesto que, el rasgo introducido no representa ninguna ventaja adaptativa a las petunias ni cambia su baja capacidad invasiva, así mismo, al establecer medidas de gestión del riesgo tal como el uso de un invernadero cerrado, con acceso restringido y entradas controladas, para realizar el ensayo, se evita la salida no autorizada de materiales con potencial propagativo, por tanto, se evidencia que se rompe la ruta al daño en los pasos descritos en los puntos 10.5.1.4, 10.5.1.5 y 10.5.1.6 de este documento.

8.5.1.8 Matriz de estimación cualitativa del riesgo

Cuadro 10. Matriz de estimación del riesgo de efectos adversos en la agricultura por comportamiento de maleza

		ESTIMACIÓN DEL RIESGO			
		BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
PROBABILIDAD	Muy Alta	BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
	Alta	BAJO	BAJO	MODERADO	ALTO
	Baja	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO	MODERADO
	Muy Baja	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIA	MAYOR
		CONSECUENCIA			

Considerando la información aportada en el BIO-02, documentos anexos, las valoraciones técnicas de los medios receptores y otras pruebas científicas disponibles, se puede determinar que la posibilidad de ocurrencia de efectos adversos en la agricultura por comportamiento de maleza de la petunia es **muy baja**.

Así mismos, las consecuencias para la agricultura en cuanto al aumento en el costo del manejo agronómicos como resultado de la supervivencia de semillas o material reproductivo después de la cosecha son **marginales**.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

De esta manera, se concluye que el riesgo de posibles efectos adversos en la agricultura por comportamiento de maleza de la petunia es **insignificante**. Sin embargo, se deben mantener las medidas de gestión del riesgo tal como el uso del invernadero cerrado, con acceso restringido y entradas controladas, para realizar el ensayo, lo cual permite mantener en niveles insignificantes la posibilidad de supervivencia y establecimiento de plantas voluntarias o rebrotes de *Petunia* fuera de las áreas autorizadas.

8.5.2 Posibles efectos adversos en las actividades agrícolas de *Petunia* convencional

Para evaluar los posibles efectos adversos en las actividades agrícolas de *Petunia* convencional se parte de la siguiente premisa:

El cultivo de petunias A1-DFR (*Petunia hybrida*) que contiene los genes *A1 DFR* que codifica una dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), que transforma el dihidrokaempferol en leucopelargonidina que eventualmente se transforma en pelargonidina de color rojo y *nptII* que codifica para una neomicina fosfotransferasa II que otorga tolerancia a kanamicina y neomicina, podría resultar en efectos adversos en las actividades agrícolas con petunia convencional.

8.5.2.1 Identificación del potencial daño a la Meta

Introgresión de genes de petunia en las variedades cultivadas de petunia convencional lo que resulta en problemas de mercado de la semilla para exportación.

8.5.2.2 Hipótesis de prueba

La petunia podría hibridar con plantas de variedades cultivadas de petunia convencional provocando introgresión de genes lo que resulta en problemas de mercado de la fruta de exportación.

8.5.2.3 Ruta al daño

Paso 1. La planta GM debe producir polen.

Paso 2. El polen se dispersa en el ambiente y debe llegar hasta plantaciones de petunia convencional.

Paso 3. Se genera la hibridación o polinización.

Paso 4. El híbrido producido debe sobrevivir a la cosecha y esta debe ser seleccionada como semilla vegetativa para nuevas plantaciones.

Paso 5. El híbrido debe propagarse en las plantaciones convencionales y ocasionar pérdida por problemas de venta de los productos debido a la introgresión genética.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.5.2.4 Análisis del Paso 1 a la ruta al daño. La planta GM debe producir polen

Este tema ya fue discutido en el punto 10.3.1.4 de este documento. En el mismo se determinó que **la ruta al daño finaliza en ese paso**. Por tanto, esta misma conclusión se puede aplicar para el paso 1 que se está discutiendo en este punto.

Sin embargo, a pesar de la poca posibilidad de polinización, seguida de la introgresión de genes y la posterior supervivencia y establecimiento de híbridos, se deben mantener las medidas de gestión del riesgo tal como el uso del invernadero cerrado, con acceso restringido y entradas controladas, que permitan mantener en niveles insignificantes la posibilidad de flujo de genes, de forma que se puedan mitigar los posibles efectos adversos en las actividades agrícolas de *Petunia* convencional

8.5.2.5 Análisis del Paso 2 a la ruta al daño. El polen se dispersa en el ambiente y debe llegar hasta plantaciones de petunia convencional

Este tema ya fue discutido en el punto 10.3.1.5 de este documento.

8.5.2.6 Análisis del Paso 3 a la ruta al daño. El polen se dispersa en el ambiente y debe llegar hasta plantaciones de Petunia convencional

Este tema ya fue discutido en el punto 10.3.1.6 de este documento.

8.5.2.7 Análisis del Paso 4 a la ruta al daño. El híbrido producido debe sobrevivir a la cosecha y esta debe ser selecciona como semilla vegetativa para nuevas plantaciones

Este tema ya fue discutido en el punto 10.3.1.7 de este documento.

8.5.2.8 Análisis del Paso 5 a la ruta al daño. El híbrido debe propagarse en las plantaciones convencionales y ocasionar pérdida por problemas de venta de los productos debido a la introgresión genética

Este paso no aplica puesto que se rompe la ruta al daño en el punto 10.5.2.7 de este documento.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.5.2.9 Matriz de estimación cualitativa del riesgo

Cuadro 11. Matriz de estimación del riesgo de efectos adversos en las actividades agrícolas de *Petunia* convencional

		ESTIMACIÓN DEL RIESGO			
PROBABILIDAD	Muy Alta	BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
	Alta	BAJO	BAJO	MODERADO	ALTO
	Baja	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO	MODERADO
	Muy Baja	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIA	MAYOR
		CONSECUENCIA			

Considerando la información aportada en el BIO-02, documentos anexos, las valoraciones técnicas de los medios receptores y otras pruebas científicas disponibles, se puede determinar que la posibilidad de efectos adversos en las actividades agrícolas con *petunia* convencional es **muy baja**.

Así mismos, las consecuencias para la agricultura debido a que la *petunia* hibridice con plantas de variedades cultivos de *Petunia* convencional, provocando introgresión de genes, lo que resulta en problemas de mercado de la semilla de exportación son **intermedias**.

De esta manera, se concluye que el riesgo de posibles efectos adversos en la agricultura por debido a que la *petunia* hibridice con plantas de variedades cultivos de *Petunia* convencional, provocando introgresión de genes es **bajo**. Sin embargo, se deben establecer medidas de mitigación que permitan mantener en niveles bajos la posibilidad de flujo de polen hacia plantaciones convencionales de *Petunia*.

8.5.3 Posibles efectos adversos en las actividades agrícolas orgánicas

Para evaluar los posibles efectos adversos en las actividades agrícolas de *petunia* orgánica se parte de la siguiente premisa:

El cultivo de *petunias* A1-DFR (*Petunia hybrida*) que contiene los genes A1 DFR que codifica una dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), que transforma el dihidrokaempferol en leucopelargonidina que eventualmente se transforma en pelargonidina de color rojo y *nptII* que codifica para una neomicina fosfotransferasa II que otorga tolerancia a kanamicina y neomicina, podría resultar en efectos adversos en las actividades agrícolas orgánicas.



8.5.3.1 Identificación del potencial daño a la Meta

Daño a las actividades orgánicas debido al cultivo de petunia en comparación con otros cultivos convencionales.

8.5.3.2 Hipótesis de prueba

El cultivo de petunia podría tener un efecto adverso para las actividades agrícolas orgánicas, debido a la posibilidad de flujo de polen o por las prácticas agronómicas empleadas en comparación con otros cultivos convencionales.

8.5.3.3 Ruta al daño

Paso 1. Presencia de cultivos orgánicos en la zona.

Paso 2. Las prácticas agronómicas en las plantaciones de petunia generan efectos negativos en las plantaciones de cultivos orgánicos debido a las cercanías entre estas.

Paso 3. Las plantaciones de petunia son sexualmente compatibles con las plantaciones de petunia orgánica generando hibridación o polinización.

Paso 5. El híbrido debe propagarse en las plantaciones orgánicas y ocasionar pérdida por problemas de venta de los productos debido a la introgresión genética.

8.5.3.4 Análisis del Paso 1 a la ruta al daño. Presencia de cultivos orgánicos en la zona

De acuerdo con la base de datos de la Unidad de Agricultura Orgánica del Servicio Fitosanitario del Estado-MAG, actualizada al 27 de noviembre 2023 (Unidad de Registro en Agricultura Orgánica del Departamento de Operaciones Regionales del Servicio Fitosanitario del Estado, 2023), no hay operadores orgánicos de petunia en Costa Rica.

Por tanto, se concluye que, al no haber presencia de cultivos orgánicos en las áreas cercanas al invernadero de siembra de petunia **la ruta al daño estaría concluida** en este punto.

8.5.3.5 Análisis del Paso 2 a la ruta al daño. Las prácticas agronómicas en las plantaciones de petunia generan efectos negativos en las plantaciones de cultivos orgánicos debido a las cercanías entre estas

Este paso no aplica puesto que, se rompe la ruta al daño en el paso descrito en el punto 10.5.3.4 de este documento.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.5.3.6 Análisis del Paso 3 a la ruta al daño. Las plantaciones de petunia son sexualmente compatibles con las plantaciones de petunia orgánica generando hibridación o polinización

Este paso no aplica puesto que, se rompe la ruta al daño en el paso descrito en el punto 10.5.3.4 de este documento.

8.5.3.7 Análisis del Paso 4 a la ruta al daño. El híbrido debe propagarse en las plantaciones orgánicas y ocasionar pérdida por problemas de venta de los productos debido a la introgresión genética

Este paso no aplica puesto que, se rompe la ruta al daño en el paso descrito en el punto 10.5.3.4 de este documento.

8.5.3.8 Matriz de estimación cualitativa del riesgo

Cuadro 12. Matriz de estimación del riesgo de efectos adversos en las actividades agrícolas orgánicas

		ESTIMACIÓN DEL RIESGO			
PROBABILIDAD	Muy Alta	BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
	Alta	BAJO	BAJO	MODERADO	ALTO
	Baja	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO	MODERADO
	Muy Baja	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIA	MAYOR
		CONSECUENCIA			

Considerando la información aportada en el BIO-02, documentos anexos, las valoraciones técnicas de los medios receptores y otras pruebas científicas disponibles, se puede determinar que la posibilidad de efectos adversos en las actividades agrícolas orgánicas es **muy baja**.

Así mismos, las consecuencias para la agricultura debido a que la petunia hibridice con plantas en cultivos de *Petunia* orgánica, así mismo, debido a los efectos de las prácticas agronómicas de del cultivo de petunia son **marginales**.

De esta manera, se concluye que el riesgo de posibles efectos adversos en la agricultura orgánica es **insignificante**.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.6 Meta de protección 5: Protección de otras actividades productivas

8.6.1 Posibles efectos adversos en las actividades apícolas

Para evaluar los posibles efectos adversos en las actividades apícolas se parte de la siguiente premisa:

El cultivo de petunias A1-DFR (*Petunia hybrida*) que contiene los genes *A1 DFR* que codifica una dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), que transforma el dihidrokaempferol en leuco pelargonidina que eventualmente se transforma en pelargonidina de color rojo y *nptII* que codifica para una neomicina fosfotransferasa II que otorga tolerancia a kanamicina y neomicina, podría resultar en efectos adversos para las actividades apícolas de la zona.

8.6.1.1 Identificación del potencial daño a la Meta

Daño a las actividades apícolas debido al cultivo de petunia en comparación con otros cultivos convencionales.

8.6.1.2 Hipótesis de prueba

El cultivo de petunia podría tener un efecto adverso para las actividades apícolas, debido a la posibilidad de efectos tóxicos en las abejas o cambios en la inocuidad de la miel, debido a los materiales recolectados en las flores de petunia durante el pecoreo de las abejas.

8.6.1.3 Ruta al daño

Paso 1. Presencia de actividades apícolas en la zona.

Paso 2. Existen efectos tóxicos en las abejas o cambios en la inocuidad de la miel, debido a los materiales recolectados en las flores de petunia durante el pecoreo de las abejas.

Paso 3. Las plantaciones de petunia generan efectos negativos en las actividades apícolas debido a las cercanías entre estas.

8.6.1.4 Análisis del Paso 1 a la ruta al daño. Presencia de cultivos orgánicos en la zona

Según la información proporcionada por SENASA, en correo enviado al POGM el día 14 de noviembre del año en curso, el apiario más cercano a la ubicación del medio receptor está ubicado a una distancia cercana a 1,6 kilómetros.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.6.1.5 Análisis del Paso 2 a la ruta al daño. Existen efectos tóxicos en las abejas o cambios en la inocuidad de la miel, debido a los materiales recolectados en las flores de petunia durante el pecoreo de las abejas.

La posibilidad de efectos tóxicos en organismos no blanco, tal como las abejas, ya fue discutido en el punto 10.4.1 de este documento. Así mismo, la posibilidad de efectos tóxicos para el consumo humano o animal de la petunia fue evaluado en el punto 10.2.1 de este documento. Encontrándose que, los riesgos ambos casos son insignificantes.

Por tanto, se concluye que **la ruta al daño finaliza en ese paso.**

8.6.1.6 Análisis del Paso 3 a la ruta al daño. Las plantaciones de petunia generan efectos negativos en las actividades apícolas debido a las cercanías entre estas

Este paso no aplica puesto que, se rompe la ruta al daño en el paso descrito en el punto 10.6.1.5 de este documento.

8.6.1.7 Matriz de estimación cualitativa del riesgo

Cuadro 13. Matriz de estimación del riesgo de efectos adversos en las actividades apícolas de la zona

		ESTIMACIÓN DEL RIESGO			
		BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
PROBABILIDAD	Muy Alta	BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
	Alta	BAJO	BAJO	MODERADO	ALTO
	Baja	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO	MODERADO
	Muy Baja	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIA	MAYOR
CONSECUENCIA					

Considerando la información aportada en el BIO-02, documentos anexos, las valoraciones técnicas de los medios receptores y otras pruebas científicas disponibles, se puede determinar que la posibilidad de efectos adversos en las actividades apícolas en la zona es **muy baja**.

Así mismos, las consecuencias para la apicultura debido a la recolección de materiales de petunia durante el pecoreo de las abejas son **marginales**.

De esta manera, se concluye que el riesgo de posibles efectos adversos en las actividades apícolas de la zona es **insignificante**.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

8.6.2 Posibles efectos adversos en otras actividades productivas debido a la salida y uso no autorizado de materiales de petunia

Para evaluar los posibles efectos adversos en otras actividades productivas debido a la salida y uso no autorizado de materiales de petunia se parte de la siguiente premisa:

El cultivo de petunias A1-DFR (*Petunia hybrida*) que contiene los genes *A1 DFR* que codifica una dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), que transforma el dihidrokaempferol en leuco pelargonidina que eventualmente se transforma en pelargonidina de color rojo y *nptII* que codifica para una neomicina fosfotransferasa II que otorga tolerancia a kanamicina y neomicina, podría resultar en efectos adversos para otras actividades productivas debido a la salida y uso no autorizado de materiales de petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR.

8.6.2.1 Identificación del potencial daño a la Meta

Daño a otras actividades productivas debido a la salida y uso no autorizado de materiales de *Petunia* GM.

8.6.2.2 Hipótesis de prueba

La salida no autorizada de materiales propagativos de *Petunia* GM, así como su posterior uso no autorizado podría tener un efecto adverso para otras actividades productivas.

8.6.2.3 Ruta al daño

Paso 1. Presencia de materiales propagativos de petunia en las áreas de siembra.

Paso 2. Salida no autorizada de materiales propagativos de petunia de las áreas de siembra.

Paso 3. Efectos adversos a otras actividades productivas debido al uso no autorizado de los materiales de petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR.

8.6.2.4 Análisis del Paso 1 a la ruta al daño. Presencia de materiales propagativos de petunia en las áreas de siembra

Es claro que, en el invernadero seleccionado para realizar el ensayo, se encontrarán materiales propagativos de *Petunia* GM.

8.6.2.5 Análisis del Paso 2 a la ruta al daño. Salida no autorizada de materiales propagativos de petunia de las áreas de siembra



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

La salida de las aguas de un sistema de producción agrícola plantea la interrogante si, en el caso de producciones con organismos genéticamente modificados puede ser medio de salida de materiales regulados fuera de las áreas reglamentadas debido al arrastre. Para el caso de la producción de petunia GM, este tipo de actividad agrícola utiliza riego por goteo. Es un sistema de riego con una alta eficiencia superior al 90%, requiere de bajas presiones para operar, se aplica solamente el agua que se evapotranspira diariamente. Sus características principales son: se humedece solamente una porción del suelo, los caudales utilizados son pequeños y la aplicación del agua se hace con una alta frecuencia (Conejo, 2022).

Con estas características, la posibilidad de salida de material vegetal, por la caída accidental al suelo y el posterior arrastre por el agua de escorrentía producto del riego, es mínima, además, en caso de que se diera esta situación, aunque resulta poco probable, existen dispositivos de retención de materiales en las salidas de los drenajes internos del invernadero.

Otra posibilidad de salida de materiales regulados fuera de las áreas reglamentadas podría ser por la salida materiales con potencial reproductivo gracias a la influencia de animales. En el caso de la producción de plantas de petunia GM, hay que analizar el planteamiento desde varias aristas.

En primera instancia se podría considerar que, durante las etapas productivas de petunia, es necesaria la polinización de las plantas que funcionen como machos hacia las plantas que funcionen como hembras. Lo que indica que durante un periodo de tiempo de razonable va a haber presencia de polen dentro del invernadero.

Al ser una estructura cerrada donde se mantendrá el cultivo de petunia GM como se mencionó anteriormente, el invernadero provee la primera barrera física contra la entrada de potenciales polinizadores, que pudieran sacar polen fuera del invernadero.

Además, otro factor a considerar es que la *Petunia axillaris*, que constituye uno de los parentales de *P. hybrida* es polinizado principalmente por la polilla halcón (Hollobah et al., 2007), que según Wickham 2001, en Costa Rica, la mayor riqueza de especies de la familia Sphingidae, a la que pertenece la polilla halcón, está ubicada principalmente en los trópicos, en particular en las tierras bajas del Atlántico, por lo que la probabilidad de ocurrencia de estas polillas en la región de Cartago son bajas.

Otro factor para considerar es que, como parte de los procedimientos propios de la producción de semillas de plantas de petunia, se requiere emasculación, las anteras de las plantas que funcionan como hembras para evitar autopolinizaciones, lo que disminuiría notablemente la cantidad de polen presente en el invernadero, dejando solo el polen presente en las plantas destinadas por la compañía como plantas macho, según los cruces necesarios.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

Por otro lado, el movimiento de polen debido a otros animales como insectos plaga tipo trips, áfidos, minadores mosca blanca o animales de mayor tamaño como lagartijas, pájaros que pudieran transportar polen fuera del invernadero, constituye una posibilidad muy baja, en primera instancia por la barrera de física que representa la malla antitrips y el plástico del invernadero, en segundo lugar, como mencionan Hollobah et al., 2007, existe una alta especificidad entre una planta y su polinizador, siendo el conjunto de rasgos florales como el color, el aroma, la forma y el contenido de néctar, características indispensable para que se dé la interacción planta-polinizador.

La salida de material de cosecha se realiza en sacos cerrados, operación que es controlada por la encargada del invernadero, además, existe un riguroso control documental, tanto a la salida del invernadero, como en el área de recepción de semillas para su debido procesamiento, por lo que la fuga de material regulado por esta vía es poco probable.

La petunia se puede propagar vegetativamente, sin embargo, la reproducción por esta vía requiere de múltiples cuidados, por lo que la probabilidad de sobrevivencia de este tipo de material en condiciones naturales es ínfima, lo que hace que la probabilidad de dispersión de esta forma está muy condicionada.

Finalmente, la acción humana es menos predecible y puede estar condicionada a las expectativas y motivaciones particulares, más que instintivas como en el caso de los animales. Por ello, los controles establecidos en la finca, tales como el acceso restringido a la finca, la doble puerta para ingreso al invernadero, el mantenimiento de las cercas alrededor de la finca y la misma distancia a centros de población, son elementos disuasorios muy positivos que permiten dar seguridad razonable de que se implementan los esfuerzos necesarios para minimizar la visitación de personas ajenas a la actividad agrícola circunscrita en estas áreas, y reducir con ello la eventual salida no autorizada de material vegetativo con potencial reproductivo de los organismos genéticamente modificado que se pretende cultivar en las áreas sujetas a esta valoración.

Considerando que se establecerán medidas de gestión del riesgo tal como el uso del invernadero cerrado, con acceso restringido y entradas controladas, que permitirá mantener en niveles bajos la posibilidad de salida no autorizada de materiales propagativos de Petunia de las áreas de siembra, **se concluye que la ruta al daño concluye en este punto.**

8.6.2.6 Análisis del Paso 3 a la ruta al daño. Efectos adversos a otras actividades productivas debido al uso no autorizado de los materiales de petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR

Este paso no aplica puesto que, se rompe la ruta al daño en el paso descrito en el punto 10.6.2.5 de este documento.

Sin embargo, para efectos de documentación, se indica que al ser un OVM, se encuentra regulada por la Ley 7664, artículo 41 que tipifican *“Las personas físicas o jurídicas que*



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

importen, investiguen, exporten, experimenten, movilicen, liberen al ambiente, multipliquen y comercialicen vegetales transgénicos, organismos modificados genéticamente o sus productos, agentes de control biológico y otros tipos de organismos para uso agrícola, producidos dentro o fuera del país, **deberán obtener autorización previa** del Servicio Fitosanitario del Estado”.

En este caso, cualquier uso de un tercero no autorizado sería ilegítimo y por temas de cumplimiento el SFE podría ejecutar los decomisos y levantar criterio de daños y perjuicios. Nótese que el artículo 58 indica “El Servicio Fitosanitario del Estado procederá a **retener y podrá ordenar el decomiso y destrucción** o reexpedición de vegetales, agentes de control biológico y **otros tipos de organismos de uso agrícola** que se hayan importado o hayan ingresado en **tránsito incumpliendo lo establecido en esta ley y sus reglamentos**, sin perjuicio de que proceda interponer la denuncia ante los tribunales de justicia. En estos casos, deberá levantarse un acta de la resolución. Cuando lo justifiquen razones técnicas, se procederá de conformidad con el artículo 81”.

Y el artículo 102 tipifica, “Artículo 102. —**De la responsabilidad y resarcimiento por daños y perjuicios.** El Departamento de Control de Insumos Agrícolas es el responsable de emitir el criterio técnico respectivo en el área de su competencia, con el fin de que en la vía jurisdiccional se establezca la responsabilidad y resarcimiento o no, por daños y perjuicios causados, por toda persona física o jurídica que importe, fabrique, formule, reenvase, reempaque, distribuya, almacene, transporte, venda y aplique, sustancias químicas, biológicas, bioquímica o afines para uso agrícola. Asimismo, emitirá el criterio técnico que corresponda por medio **del Programa de biotecnología** en los casos en que los daños y perjuicios causados a la agricultura, ganadería, salud humana y el ambiente, se realice por aquellas **personas físicas o jurídicas** que investiguen, experimenten, movilicen, liberen al ambiente, o bien, importen, exporten, multipliquen y comercialicen con vegetales transgénicos, o con organismos o productos modificados genéticamente, o agentes de control biológico y otros tipos de organismos para uso agrícola, producidos dentro o fuera del país”.

8.6.2.7 Matriz de estimación cualitativa del riesgo

Cuadro 14. Matriz de estimación del riesgo de efectos adversos a otras actividades productivas debido al uso no autorizado de los materiales de petunia GM.

		ESTIMACIÓN DEL RIESGO			
		BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
PROBABILIDAD	Muy Alta	BAJO	MODERADO	ALTO	ALTO
	Alta	BAJO	BAJO	MODERADO	ALTO
	Baja	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO	MODERADO
	Muy Baja	INSIGNIFICANTE	INSIGNIFICANTE	BAJO	MODERADO
		MARGINAL	MENOR	INTERMEDIA	MAYOR
		CONSECUENCIA			



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

Considerando la información aportada en el BIO-02, documentos anexos, las valoraciones técnicas de los medios receptores y otras pruebas científicas disponibles, se puede determinar que la posibilidad de salida no autorizada de materiales de petunia es **baja**.

Así mismos, las consecuencias para otras actividades productivas debido al uso no autorizado de los materiales de petunia son **menores**.

De esta manera, se concluye que el riesgo de posibles efectos adversos en las actividades apícolas de la zona es **bajo**.

Dado que existe la posibilidad de la salida no autorizada de materiales con potencial propagativo, debido a los hurtos, así como el uso no autorizado, se deben establecer medidas de mitigación que permitan mantener en niveles bajos el riesgo, de forma que se mantenga interrumpida la ruta al daño en este paso.

9 POR TANTO

Por tanto, el Programa de Organismos Genéticamente Modificados (POGM) del Servicio Fitosanitario del Estado, considerando la información aportada en el BIO-02, documentos anexos, las valoraciones técnicas de los medios receptores y otras pruebas científicas disponibles, **declara que los riesgos identificados asociados al cultivo de petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR en los medios receptores propuestos se pueden administrar mediante el establecimiento de medidas de gestión de riesgos, así mismo, resuelve brindar un dictamen técnico favorable para la emisión del Certificado de Liberación al Ambiente de la petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR, la para la siembra, la movilización, la exportación, la experimentación, la multiplicación y movilización de todo tipo de semilla para siembra; producción y movilización de semilla para la exportación.**

No obstante, sin perjuicio de lo anterior, el POGM en todo momento tendrá la autoridad para inspeccionar, recomendar medidas, monitorear, autorizar o rechazar áreas dentro de las áreas propuestas para la utilización de los proyectos con petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR, toda vez que se encuentren elementos que afecten el adecuado control e implementación de los riesgos en bioseguridad agrícola relacionados con la actividad de liberación al ambiente de petunia genéticamente modificada Ball A1-DFR. Se indica que toda autorización o rechazo estará acompañada de un informe técnico que justifique, de manera científica y técnica, las decisiones tomadas el POGM.



10 LITERATURA CITADA

- Ando T, Tsukamoto T, Akiba N, Kokubun H, Watanabe H, Ueda Y, Marchesi E (1998) Differentiation in the degree of self-incompatibility in *Petunia axillaris* (Solanaceae) occurring in Uruguay. *APG* 49: 37–47
- Bashandy, H. Teeri, T. 2017. Genetically engineered orange petunias on the market. *Planta*, 246:277–280.
- Bashandy, H., Teeri, T.H. 2017. Genetically engineered orange petunias on the market. *Planta* 246, 277–280 <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2722-8>
- BCH. <http://bch.cbd.int/database/record.shtml?documentid=112261>
- EFSA. 2004. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants (Question N° EFSA-Q-2003-109) *The EFSA Journal* (2004) 48, 1-18. Retrieved from <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2004.48>
- European Food Safety Authority (EFSA). 2007. Statement of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *EFSA J* 48: 1-18.
- Fuchs RL, Ream JE, Hammond BG, Naylor MW, Leimgruber RM, and Berberich SA. 1993. Safety Assessment of the Neomycin Phosphotransferase II (NPTII) Protein. *Bio/Technology* 11, pp. 1543. Retrieved from <https://www.nature.com/articles/nbt1293-1543.pdf>
- Garzón, G. A. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta biológica colombiana*, 13(3), 27-36.
- Garzón, G. A. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta biológica colombiana*, 13(3), 27-36.
- Gerats, T., & Strommer, J. (Eds.). 2008. *Petunia: evolutionary, developmental and physiological genetics*. Gerats, T., & Strommer, J. (Eds.). (2008). *Petunia: evolutionary, developmental and physiological genetics*. Springer Science & Business Media. Springer Science & Business Media.
- Gerats, T., & Strommer, J. (Eds.). 2008. *Petunia: evolutionary, developmental and physiological genetics*. Gerats, T., & Strommer, J. (Eds.). (2008). *Petunia: evolutionary, developmental and physiological genetics*. Springer Science & Business Media. Springer Science & Business Media.
- Goldstein, M., Vallejos-Vidal, E., Wong-Benito, V., Barraza-Rojas, F., Tort, L., Reyes-Lopez, F. E., & Imarai, M. 2023. Effects of artificial photoperiods on antigen-dependent immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 137, 108759.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

- González, P., & Villalobos, E. 1988. Ruptura del reposo de semillas de *Petunia* híbrida con tratamientos de ácido giberélico y estratificación. *Agronomía Costarricense*. 12 (1): 19-25. Disponible en https://www.mag.go.cr/rev_agr/v12n01_019.pdf.
- Griesbach, R. 2006. *Petunia Petunia X hybrida*. En *Flower Breeders and genetics* (págs. 301-336). Springer.
- Griesbach, R.J. 1993. Characterization of the Flavonoids from *Petunia x hybrida* Flowers expressing the A1 gene of *Zea mays*. *HortScience* 28 (6): 659-660.
- Gübitz T, Hoballah ME, Dell’Olivo A, Kuhlemeier, C. 2009. *Petunia* as a model system for the genetics and evolution of pollination syndromes. In: Gerats T, Strommer J, eds. *Petunia: evolutionary, developmental and physiological genetics*. New York: Springer, 29–49.
- Haselmair-Gosch, C., Miosic, S., Nitarska, D., Roth, B. L., Walliser, B., Paltram, R., ... & Halbwirth, H. 2018. Great cause—small effect: undeclared genetically engineered orange petunias harbor an inefficient dihydroflavonol 4-reductase. *Frontiers in plant science*, 9, 149.
- Hilty J. 2017. Weedy Wildflowers of Illinois - Garden Petunia. Disponible en <https://www.illinoiswildflowers.info/weeds/plants/petunia.html>
- Idárraga-Piedrahita, A., R. del C. Ortiz, R. Callejas Posada & M. Merello. 2011. Listado de las plantas vasculares del departamento de Antioquia. 2: 9–939. In A. Idárraga-Piedrahita, R. del C. Ortiz, R. Callejas Posada & M. Merello Fl. Antioquia: Cat. Universidad de Antioquia, Medellín.
- INDER. 2016. Región Central Caracterización del Territorio Cartago-Oreamuno-El Guarco-La Unión. Disponible en <https://www.inder.go.cr/correque/Caracterizacion-territorio-Cartago-Oreamuno-El-Guarco-La-Union.pdf>
- Instituto Geográfico Nacional. (n.d.). Cantón 308 El Guarco. San José. Obtenido de <http://mapasdecostarica.info/atlas-cantonal-costa-rica/>
- Knapp S. 2010. On ‘various contrivances’: pollination, phylogeny and flower form in the Solanaceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 365:449–460
- Linskens HF. 1975. Incompatibility in *Petunia*. *P Roy Soc Lond B Bio* 188: 299–31
- Lorenz-Lemke AP, Mäder G, Muschner VC, Stehmann JR, Bonatto SL, Salzano FM, Freitas LB. 2006. Diversity and natural hybridization in a highly endemic species of *Petunia* (Solanaceae): a molecular and ecological analysis. *Mol Ecol*. 15:4487–97.
- Louisa Howard. *Petunia* (Pollen wall) - CIL:40304. <https://www.doccheck.com/en/detail/photos/17749-petunia-pollen>. doi:10.7295/W9CIL40304



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

- Meng X, Sun P, Kao TH. 2011. S-RNase-based self-incompatibility in *Petunia inflata*. *Ann Bot.* Sep;108(4):637-46. doi: 10.1093/aob/mcq253. Epub 2010 Dec 30. PMID: 21193481; PMCID: PMC3170144.
- Meyer, P., Heidmann, I., Forkmann, G. and Saedler, H. 1987. A new petunia flower colour generated by transformation of a mutant with a maize gene. *Nature Publishing Group*, Vol 330, 677-678.
- Meyer, P., Linn, F., Heidmann, I., Meyer, H., Niedenhof, I, Saedler, H. 1992. Endogenous and environmental factors influence 35S promoter methylation of a maize A1 gene construct in transgenic petunia and its color phenotype. *Mol Gen Genet* 231: 345-352
- Milicia, V. J., Rodríguez, M. F., Hagiwara, J. C., & Soto, M. S. 2021. Utilización de plantas puente en el mejoramiento del complejo calibrachoa-petunia. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 37(2), 136-150. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS37-16UPVM40016>
- Ministerio de Planificación Nacional y Política Económica, & PNUMA. 2009. Plan de Desarrollo Humano Local 2010-2020, Cantón El Guarco. San José. Obtenido de: [http://www.ifam.go.cr/PaginalFAM/docs/PRODUCTOS_FOMUDE_2006-2011/R4-Productos/P23_Planes_DHL_y_Agendas_Distritales/Planes de Desarrallo Humano Cantonal/Plan de Desarrollo Humano Local Cantón El Guarco.pdf](http://www.ifam.go.cr/PaginalFAM/docs/PRODUCTOS_FOMUDE_2006-2011/R4-Productos/P23_Planes_DHL_y_Agendas_Distritales/Planes_de Desarrallo Humano Cantonal/Plan de Desarrollo Humano Local Cantón El Guarco.pdf)
- Molina R., A. 1975. Enumeración de las plantas de Honduras. *Ceiba* 19(1): 1–118. <https://revistas.zamorano.edu/index.php/CEIBA/article/view/470/461>
- Moore, P.D., J. A. Webb, and M. E. Collinson. 1991. *POLLEN ANALYSIS*, Blackwell Scientific Publications,.
- Nepi, M., Cresti, L., Guarnieri, M., & Pacini, E. 2010. Effect of relative humidity on water content, viability and carbohydrate profile of *Petunia hybrida* and *Cucurbita pepo* pollen. *Plant Systematics and Evolution*, 284, 57-64. 10.1007/s00606-009-0237-x
- OECD. 2003. Consensus Document on the biology of *Zea mays* subsp. *Mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology (ENV/JM/MONO (2003) 11), No 27, 1–49.
- Oud, J. S., Schneiders, H., Kool, A. J., & van Grinsven, M. Q. 1995. Breeding of transgenic orange *Petunia hybrida* varieties. *Euphytica*, 84(3), 175-181.
- Pérez. A. M. et al. (2022). Respuesta de *Petunia × hybrida* a la aplicación de brasinoesteroides. *BONPLANDIA* 31(2).
- Rodrigues, D. M., Caballero-Villalobos, L., Turchetto, C., Assis Jacques, R., Kuhlemeier, C., & Freitas, L. B. 2018. Do we truly understand pollination syndromes in *Petunia* as much as we suppose? *AoB Plants*, 10(5), ply057.



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

- Rosellini D. 2012. Selectable Markers and Reporter Genes: A Well Furnished Toolbox for Plant Science and Genetic Engineering. *Critical Reviews in Plant Sciences* 31, pp. 401-453.
- Segatto ALA, Cazé ALR, Turchetto C, Klahre U, Kuhlemeier C, Bonatto SL, Freitas LB. 2014. Nuclear and plastid markers reveal the persistence of genetic identity: a new perspective on the evolutionary history of *Petunia exserta*. *Mol Phylogenet Evol.*;70:504–12.
- Smalla K, van Overbeek LS, Pukall R, and van Elsas JD. 1993. Prevalence of nptII and Tn5 in kanamycin-resistant bacteria from different environments. *FEMS Microbiology Ecology* 13, pp. 47-58.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016864969390040E>
- Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 8(3), 207-217.
- Turchetto C, Segatto ALA, Beduschi J, Bonatto SL, Freitas LB. 2015. Genetic differentiation and hybrid identification using microsatellite markers in closely related wild species. *AoB Plants*.7: plv084.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Comptox Chemicals Dashboard. Pelargonidin. <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID40861793> (Consultado el 21 de marzo de 2024).
- Unidad de Registro en Agricultura Orgánica del Departamento de Operaciones Regionales del Servicio Fitosanitario del Estado. (<https://www.sfe.go.cr/SitePages/ARAO/InicioARAO.aspx>).
- USDA-APHIS 2019. petition 19-099-01p-revised; Bashandy, H., Teeri, T.H. Genetically engineered orange petunias on the market. *Planta* 246, 277–280 (2017). <https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/petunia/19-099-01p-revised-petition.pdf>
- USDA-APHIS. 2020. Plant Pest Risk Assessment: Westhoff Petition (19-099-01p) for Determination of Non-regulated Status of Petunias Containing the A1 gene of Maize (A1-DFR petunias) <https://www.regulations.gov/document/APHIS-2019-0037-0001>
- US-FDA. 1994. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption; food additives permitted in feed and drinking water of animals; aminoglycoside 3'-phosphotransferase II; final rule. *Federal Register* Volume 59, Issue 98, pp 26700-26711 (May 23, 1994). United States Food and Drug Administration. Retrieved from <https://www.gpo.gov/fdsys/granule/FR-1994-05-23/94-12492>
- Villaseñor Ríos, J. L. 2016. Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Catálogo de las plantas vasculares nativas de México*. *Revista Mex. Biodivers.* 87(3): 559–9
- Watanabe H, Ando T, Iida S, Suzuki A, Buto K, Tsukamoto T, Hashimoto G, Marchesi E. 1996. Cross compatibility of *Petunia* cultivars and *P. axillaris* with native taxa of *Petunia* in



UNIDAD DE PROGRAMAS ESPECIALES

PROGRAMA DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

relation to their chromosome number. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science.65:625–34.

Westhoff Vertriebsgesellschaft. 2019. Petition for the determination of non-regulated status for petunias containing the A1 gene of Maize (A1-DFR petunias). *Online at* <https://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/19-09901p.pdf> (Accesado: 12 de octubre de 2022).

Wishart D, Arndt D, Pon A, Sajed T, Guo AC, Djoumbou Y, Knox C, Wilson M, Liang Y, Grant J, Liu Y, Goldansaz SA, Rappaport SM. 2015. T3DB: la base de datos de exposomas tóxicos. Ácidos Nucleicos Res. 43 de enero de 2015 (edición de la base de datos): D928-34.

ZKBS. 2008. Opinion of the Central Committee on Biological Safety (ZKBS) on the safety assessment of antibiotic resistance genes in the genome of genetically modified plants from December 2008, https://www.zkbs-online.de/ZKBS/EN/04_Allgemeine%20Stellungnahmen/allgemeine_stellungnahmen_node.html#doc8569998bodyText5