GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA
INNOVACIÓN AGRARIA

Fundación para la Innovación Agraria
26 DIC. 2001
RECEPCION

CONCURSO NACIONAL DE PROYECTOS DE DESARROLLO E INNOVACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA 2001

FORMULARIO DE PRESENTACIÓN DE PROPUESTAS

La propuesta de proyecto deberá presentarse en este formulario, en tres ejemplares (un original y dos copias) y en disquet. Aquellos postulantes que no cuenten con medios computacionales, pueden transcribir el contenido del proyecto directamente a este cuadernillo.

Antes de iniciar la preparación del proyecto y el llenado del formulario se solicita leer con detención todos los puntos del "Instructivo para la Presentación de Propuestas", a fin de evitar errores que dificultarán posteriormente la evaluación de la propuesta por parte de la Fundación, o que puedan ser motivo de rechazo de la propuesta en las etapas de admisión o evaluación.

El formulario está dividido en secciones, que incluyen cierto espacio para la presentación de la información. Si el espacio en una sección determinada no es suficiente, se podrán agregar hojas adicionales, identificando la sección a la cual pertenecen. Podrá adjuntarse además cualquier otro tipo de información adicional o aclaratoria que se considere importante para la adecuada descripción de la propuesta.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

GOBIERNO DE CHILE
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

FOLIO DE BASES 125

CÓDIGO (uso interno) **BIOT- O1- A - 14**

1. ANTECEDENTES GENERALES DEL PROYECTO

NOMBRE DEL PROYECTO:

Desarrollo de un sistema de trazabilidad molecular y de evaluación sobre la biodiversidad local de plantas modificadas genéticamente a través de transgenia.

Línea Temática: Agricultura y ganadería **Rubro:** Bioseguridad vegetal

Región(es) de Ejecución: V, RM, VI, VII, VIII, IX y X

Fecha de Inicio: 30-12-01

Fecha de Término: 30-12-05

DURACIÓN: 48 meses

AGENTE POSTULANTE:

Nombre : INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
Centro Experimental La Platina
Dirección : Santa Rosa 11.610 Ciudad y Región: Santiago, RM
RUT :
Teléfono : 02-5417223 Fax y e-mail: 02-5417667; hprieto@platina.inia.cl
Cuenta Bancaria (tipo, Nº, banco):

AGENTES ASOCIADOS:

Servicio Agrícola y Ganadero

REPRESENTANTE LEGAL DEL AGENTE POSTULANTE:

Nombre: Francisco González del Río
Cargo en el agente postulante: Director Nacional
RUT: Firma: P/
Dirección: Fidel Oteíza 1956, piso 12, Providencia. Ciudad y Región: Santiago, RM
Fono: 02-2252118 Fax y e-mail: 02-2258773; fgonzale@inia.cl

COSTO TOTAL DEL PROYECTO
(Valores Reajustados) : $

FINANCIAMIENTO SOLICITADO
(Valores Reajustados) : $ 59.1 %

APORTE DE CONTRAPARTE
(Valores Reajustados) : $ 40.9 %

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS MINISTERIO DE AGRICULTURA

2. EQUIPO DE COORDINACIÓN Y EQUIPO TÉCNICO DEL PROYECTO

2.1. Equipo de coordinación del proyecto
(presentar en Anexo A información solicitada sobre los Coordinadores)

COORDINADOR DEL PROYECTO

NOMBRE	RUT	FIRMA
Humberto Prieto Encalada		

AGENTE	DEDICACIÓN PROYECTO (%/año)
Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación La Platina	16%
CARGO ACTUAL Investigador del Laboratorio de Biotecnología	CASILLA 439-3 Stgo
DIRECCIÓN Santa Rosa 11610, La Pintana	CIUDAD Santiago

FONO	FAX	E-MAIL
5417223, anexos 155 ó 129	5417667	hprieto@platina.inia.cl

COORDINADOR ALTERNO DEL PROYECTO

NOMBRE	RUT	FIRMA
Erika Salazar Suazo		

AGENTE	DEDICACIÓN PROYECTO %/AÑO
Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación La Platina	10%
CARGO ACTUAL Investigadora Programa de Fruticultura	CASILLA 439-3 Stgo
DIRECCIÓN Santa Rosa 11610, La Pintana	CIUDAD Santiago

FONO	FAX	EMAIL
5417223, anexos 204 ó 123	5417667	esalazar@platina.inia.cl

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

2.2 . Equipo Técnico del Proyecto (presentar en Anexo A información solicitada sobre los miembros del equipo técnico)

Nombre Completo y Firma	RUT	Profesión	Especialidad	Función y Actividad en el Proyecto	Dedicación al Proyecto (%/año)
Humberto Prieto		Bioquímico, PhD.	Transgenia	Coordinador y Jefe Técnico de Trabajo en Laboratorio	16
Erika Salazar		Ing. Agrómono	Manejo Agronómico	Coordinador Alterno y Jefe Técnico en Campo	10
Mike Wilkinson		Taxónomo, Ph. D.	Flujo génico	Experto en evaluación de flujo génico	5
Boris Sagredo		Bioquímico, Ph. D.	Genética molecular. Uso de marcadores moleculares	Desarrollo de evaluación del sistema de papas	7
Pedro León		Biólogo, Ph. D.	Biología de la reproducción en plantas Fisiología de Semillas	Supervisión y desarrollo de sistemas de maíz, *Brassica*	7
Alejandra Bustos		Ing. Agrónomo	Biología molecular, sistemas de trazabilidad molecular	Trazabilidad molecular, transferencia a SAG	88
Claudio Fiabane		Ing. Agrónomo	Coordinador Centro SAG para trazabilidad	Trazabilidad molecular, transferencia a SAG	5

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

3. BREVE RESUMEN DEL PROYECTO

(Completar esta sección al finalizar la formulación del Proyecto)

La incorporación de los cultivos genéticamente modificados por transgenia ha obligado a la reformulación de los sistemas de evaluación y análisis de riesgos relacionados con el efecto sobre la biodiversidad, comúnmente llamados sistemas de bioseguridad. En el actual contexto, la política de Chile es el alineamiento dentro de los bloques comerciales internacionales, lo que implica la firma, ratificación y finalmente el cumplimiento, de los acuerdos internacionales estipulados por la Organización Mundial del Comercio, el *Codex Alimentarius* y el Convenio de Biodiversidad Biológica. Esta ratificación de membrecía, implica que Chile deberá presentarse ante la comunidad internacional como un componente con capacidad de definición frente a determinados eventos relacionados con la producción, internación y consumo de Organismos Genéticamente Modificados (OGMs) o de sus derivados ("commodities"). Para enfrentar este conjunto de decisiones, es absolutamente indispensable que cada país posea centros con capacidad técnica de evaluación de los eventuales riesgos que implicarían la adopción de determinados productos transgénicos desarrollados en centros de investigación extranjeros o nacionales, concentrados no sólo en la detección de estos organismos con el fin de manipularlos con preservación de su identidad (segregación) y verificando su condición de OGMs, sino también evaluando el real impacto sobre los componentes cotidianos de nuestro ecosistema (humanos, animales y plantas). De esta forma, el presente proyecto tiene como objetivo general la generación y establecimiento de un sistema de análisis de OGMs en el país, el que se percibe como un conjunto de dos componentes, la trazabilidad molecular de los OGMs (especialmente de los importados) y el impacto de estos sobre la biodiversidad silvestre y agrícola propia. De la misma forma, una vez establecida esta capacidad técnica, se formula su transferencia hacia los organismos regulatorios específicos (específicamente al Servicio Agrícola y Ganadero, SAG), como una estrategia de implementación rápida de, al menos, las primeras etapas de evaluación de los embarques importados (trazabilidad molecular).

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

4. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA A RESOLVER

El problema en Chile y la capacidad técnica nacional para la evaluación de riesgos de OGMs.

Aunque en el papel nuestro país pareciera poseer un sistema adecuado de regulación y estudio de los casos para internación y posterior liberación a campo de cultivos genéticamente modificados (GM), la verdad es que Chile no cuenta con una política integral de evaluación de cultivos transgénicos ni de "commodities". El Consejo Asesor de Liberación de Transgénicos (CALT) representa la única instancia de evaluación de una Declaración Jurada presentada por el aplicante, entendido éste como el productor y/o importador de una semilla tipo OGM o un cultivo GM, sin capacidad real de evaluación *in situ* del efecto o nivel de interacción con el medioambiente, la salud animal o la salud humana.

En el país no existen centros de análisis de la incorporación e interacción del OGM y especies silvestres relacionadas (centros de estudios de bioseguridad), tampoco existen los respectivos referentes para la evaluación de los efectos sobre la salud humana (por ejemplo alergenicidad y toxicidad, que pudieran ser dependientes de las diversas etnias o poblaciones) ni animal. En este sentido, un buen ejemplo de política nacional es el habilitado por Brasil, quien pese a prohibir la comercialización de OGMs, posee en la Empresa Brasileña de Investigación Agropecuaria (EMBRAPA) un centro de investigación que produce cultivos transgénicos y que cuenta con centros de evaluación del impacto de los OGMs sobre su biodiversidad distribuidos en todo el país, pese a que este país no registra cultivos GM para comercialización.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS

5. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

5.1. Introducción.

El desarrollo de la agricultura durante el siglo pasado estuvo marcado por grandes hitos que estuvieron directamente relacionados con la biología. En el período comprendido por los años 1930 a 1985, la producción de maíz aumentó en un 600% gracias a la utilización de la hibridación como una técnica de mejoramiento. El advenimiento de la tecnología del DNA recombinante, a mediados de los ´70s, permitió generar las condiciones para romper las barreras interespecíficas, dando paso al mejoramiento genético asistido por transgenia. De esta forma, tras la clonación de un gen de interés (por ejemplo un gen que genera la resistencia a un herbicida o la producción de un aminoácido importante para la nutrición humana o animal), éste pudo ser introducido mediante técnicas de transformación genética (como *Agrobacterium tumefaciens* o biobalística, hoy en día de uso masivo), generando un cultivo con mayores ventajas comparativas frente a sus relativos no transgénicos. Sin duda que hasta hoy, quienes han sido directos beneficiarios del uso de esta tecnología, han sido los productores que la han acogido y, evidentemente, las compañías que la generaron a gran escala. Esta primera generación de cultivos transgénicos o cultivos genéticamente modificados (GM), lejos de ser una moda, se presenta como una nueva herramienta que se adiciona a las ya existentes para el fin último de la seguridad alimentaria ("food security") de la siempre creciente población mundial. En la actualidad, los desarrollos de nuevos cultivos transgénicos no sólo apuntan a beneficiar a los productores, sino también los beneficios de esta tecnología están más próximos al consumidor final, esperándose productos con una calidad mejorada o con más alto valor nutricio, dando paso a una segunda generación de "alimentos transgénicos".

5.2. Origen de una controversia.

Hasta 1999 la discusión sobre los cultivos genéticamente modificados permaneció en una fase silenciosa limitada a los movimientos ambientalistas. Últimamente, la producción y comercialización de estos cultivos, tanto en EE.UU. como en el resto del mundo, ha aumentado paulatinamente hasta el punto de que cerca de la mitad de la soya y del algodón y cerca de un tercio del cereal (especialmente maíz) y canola (una variación genética de "rape seed") sembrada en los EE.UU. es transgénica. Sin ir más lejos, nuestro vecino Argentina anuncia tener un 95% de su plantación de soya y un 25% de su siembra de maíz, comprendidas por cultivos transgénicos (Pequeño, 2000). Desde 1992, el Departamento de Agricultura de EE.UU. (USDA) ha desregulado 60 variedades de cultivos transgénicos para liberación comercial a campo (según Animal and Plant Health Inspection Service and Permits, 2000) y los agricultores han adoptado estas variedades en un tiempo récord, adopción también observada en Argentina (Pequeño, 2000). Durante el mismo período, científicos pertenecientes tanto al sector privado como al sector gubernamental, han estado activamente diseñando experimentos y publicando información sobre la transformación de plantas y bioseguridad. El silencio observado inicialmente fue súbitamente roto en 1998 por la publicidad circundante a los hallazgos científicos descritos por Arpad Prusztai (Ewen y Prusztai, 1999), inmunólogo del Rowett Research Institute de Escocia, quien en una aparición pública en la televisión inglesa anunció que papas modificadas genéticamente con el gen de lectina de *Gaanthus nivalis* resultaron tóxicas como alimento para ratas, generando una alteración de su sistema inmune. Este acontecimiento marcó el inicio de una escalada en Europa en contra de los cultivos transgénicos, la que luego llegó a los EE.UU. Un nuevo reporte en Mayo de 1999 (Losey y col.,

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

1999) donde se describe la toxicidad de polen derivado de cereal transgénico expresando la toxina insecticida *Cry* de *Bacillus thurigensis* resultó perjudicial para la mariposa Monarca.

Desde un punto de vista técnico-científico, estos antecedentes pudieran parecer como insatisfactorios y emocionales, pero la verdad es que el impacto que han tenido en los detractores de la biotecnología agrícola ha superado todas las expectativas. Un ejemplo de ello surge de hechos como los que se han observado en compañías transnacionales de la industria alimentaria como Kellog´s y Gerber o cadenas de restaurantes como McDonald´s, quienes decidieron retirar insumos derivados de cultivos transgénicos desde sus fábricas de alimentos.

5.3. Marco Regulatorio.

Sin duda que un actor elemental ante la presente realidad de la incorporación de los cultivos genéticamente modificados al mercado recae en el marco regulatorio y en las instituciones de referencia encargadas de velar por su cumplimiento. Todas las decisiones determinadas en el país deben contar con entidades que sean de la total confianza técnica y ética de cada uno de los integrantes de nuestra Sociedad. Es precisamente este marco de formas de actuar, en un formato país, el que nos permitirá gozar de los beneficios de esta y de las nuevas tecnología que, necesariamente, se desarrollarán.

5.3.1. Marco Regulatorio Internacional.

Desde 1970 muchos países han instaurado marcos regulatorios oficiales para el control de las diversas aplicaciones de la biotecnología. De manera particular, los esfuerzos se han concentrado en aspectos de seguridad de la aplicación de la tecnología teniendo como sujetos de impacto al hombre, los animales y el medioambiente. Las Directivas de la Unión Europea 219/90 y 220/90 constituyen un conjunto de normas para la liberación al medioambiente de OGMs. Por el contrario, las agencias regulatorias de Estados Unidos (el más grande exportador de cultivos genéticamente modificados), consideran a estas nuevas técnicas de modificación genética como una extensión de otros procesos biotecnológicos, esto es, que los nuevos productos (plantas transgénicas) obtenidos a través de esta tecnología son evaluados según los mismos marcos regulatorios de evaluación de riesgos diseñados previamente. Así, en Estados Unidos existen tres agencias gubernamentales: agricultura, salud y medioambiente, encargadas conjuntamente de la regulación, pruebas de campo y control del uso de la "tecnología del DNA recombinante".

Los criterios utilizados por la Directriz Europea 220/90 y por la Agencia de Agricultura y Salud Estadounidense en cuanto a salud humana y medioambiente son básicamente los mismos, difiriendo sólo en que la agencia europea establece los requisitos a cumplir por el aplicante para una liberación a campo, mientras que en EE.UU. los criterios son básicamente formulados por el mismo generador del OGM, en acuerdo con la agencia del estado.

De forma similar, en Sudamérica países como Brasil y Argentina han implementado sistemas de tránsito, siembra y vigilancia de material transgénico. En Enero de 1995 Brasil publica la Ley 8974 y el Decreto 1725/95, estableciendo el Comité Técnico Nacional de Bioseguridad (CTNBio), agencia gubernamental responsable de las regulaciones a campo de plantas transgénicas y de la elaboración de normas para el uso contenido y la liberación al medioambiente de OGMs. El esqueleto normativo y funcional brasileño es muy parecido al esquema europeo, pues considera el control de la tecnología del DNA recombinante en forma distinta de otros procesos biológicos. Sin embargo, desde el punto de vista de los procedimientos de inspección y evaluación, Brasil sigue el modelo implementado por EE.UU., en el cual cada autorización es seguida por un examen local crítico para asegurar que las

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS, GESTIÓN Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

principales medidas de evaluación de riesgo que presenta el aplicante, sean llevadas a cabo correctamente. Argentina define las condiciones que deben reunir los OGMs para ser liberados al medio en las Resoluciones Nº 656 (de la SAGyP del 30 de Julio de 1992) y Nº 837 (de la SAGyP del 9 de Septiembre de 1993). Estas Resoluciones se suman a las normativas existentes en materia de protección vegetal (Decreto Ley de Defensa Sanitaria de la Producción Agrícola 6704/66), de semillas y creaciones fitogenéticas (Ley de Semillas y Creaciones Fitogenéticas 20247/73) y de sanidad animal (Ley de Productos Veterinarios). De manera similar a Brasil, la estrategia de Argentina se basa en la aprobación para liberación a campo esencialmente de los mismos eventos transgénicos que están siendo aprobados en Europa, de manera de no afectar su fuerte posición exportadora.

5.3.2. El problema en Chile y la capacidad técnica nacional.

En la actualidad, la Evaluación de Riesgo Previa para los OGMs importados es aplicada en Chile por el CALT, dependiente del SAG (según Resolución Exenta 1927 de 1993). La evaluación del CALT se basa en un formulario tipo Declaración Jurada, completado por el solicitante sea este un importador de un OGM, en donde se vierte una completa descripción a nivel botánico, agronómico y molecular de los diversos componentes del nuevo cultivo. Debido a la novedad y escasez de ejemplos, los cultivos transgénicos obtenidos en Chile son sometidos voluntariamente a las normativas del CALT, aunque a la fecha todos los cultivos de este tipo generados en el país se han sometido a dichas regulaciones. En el documento de presentación se incluyen estudios de evaluación de posibles interacciones medioambientales y de métodos de control ante posibles escapes de gametos transgénicos (vale decir supuestos teóricos). Además, en el caso del ingreso de semillas transgénicas (situación preponderante a la fecha), éstas deben ser utilizadas para reproducción y reexportación, salvo el caso específico del uso para consumo animal de granos de maíz con resistencia a glifosato, a glufosinato de amonio y a lepidópteros (según la Resolución Exenta 3970 de 1998). Una modificación al Reglamento Sanitario del Ministerio de Salud fue publicada el 13 de Enero del 2000, en la que se plantea un análisis caso a caso para la autorización de ingreso al país de material transgénico destinado al consumo humano. Esta es una situación muy particular, puesto que aún cuando no existen estudios sobre el tema, se han propuesto modificaciones adicionales *ad portas* de ser publicadas.

Si bien ya se han realizado muchos estudios en los países del Hemisferio Norte, experiencia de gran utilidad para Chile, la información del trabajo realizado en otros lugares debe sólo ser utilizada como referencia especial a la prueba en cuestión y a las condiciones en las cuales se realiza. Es un deber preguntarse acerca de la confiabilidad de la información, y proceder sobre la base de caso por caso, específicamente si se considera que existen amplias variaciones en el clima, la flora y la fauna entre países, y diferencias regionales en las prácticas agronómicas (por ej. tamaño de predios, uso de agroquímicos, rotación de cultivos, etc.) que tienen impacto en el flujo génico.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

6. MARCO GENERAL DEL PROYECTO

El uso de las herramientas de la "tecnología del DNA recombinante" ha ofrecido la posibilidad del desarrollo de organismos (plantas, animales y microorganismos) genéticamente modificadas (OGMs) conteniendo rasgos de interés (resistencia a herbicidas, resistencia a plagas y enfermedades, alto contenido de β-caroteno, alto contenido de fitasa, producción disminuída de etileno, etc.). Sin embargo, este desarrollo conlleva, además de los beneficios evidentes, implicancias de carácter ecológico producto de la dispersión y eventual pérdida de control sobre este tipo de cultivos. Aspectos claves relativos a la aplicación masiva de esta tecnología son: a) la trazabilidad molecular del material genéticamente modificado y su manejo con identidad preservada y b) la hibridación de los cultivos transgénicos con sus relativos silvestres y la eventual introgresión sucesiva de los rasgos transgénicos hacia el "pool" génico de las poblaciones silvestres locales.

La existencia de entes reguladores del comercio internacional como la Organización Mundial de Comercio o el Protocolo de Biodiversidad, exigen a sus países miembros la adopción de medidas que tiendan a una clara comercialización y movimiento transfronterizo de material biológico, entre los que se incluyen, por supuesto, los cultivos trangénicos. Chile se ha empeñado en su incorporación a diversos bloques económicos (MERCOSUR, Nafta, Comunidad Europea) como una forma de dar impulso al desarrollo global del país. Esta aplicación a diversos tratados internacionales y postulación a bloques económicos involucra, desde el punto de vista de los cultivos transgénicos, nivelar nuestras capacidades técnicas nacionales para disponer de decisiones rápidas, atingentes y efectivas ante el inminente movimiento transfronterizo de OGMs.

Desde 1991, Chile está desarrollando la capacidad de generar cultivos transgénicos con énfasis en la solución a problemas locales cuya solución sólo depende de nosotros. INIA - La Platina ha desarrollado cultivos de papa con resistencia a insectos y a la bacteria *Erwinia carotovora*, y melones con resistencia a virus. En la actualidad, este mismo centro está desarrollando un mega-programa de transformación genética de vides para introducir resistencia a enfermedades fúngicas, como así también realiza las primeras prospecciones en la transformación de frutales de carozo. Basados en esta experiencia, es evidente que un paso obligado es la evaluación de este material que requerirá de una cuantificación del impacto de estos productos sobre nuestro ecosistema. Este desarrollo nacional viene a coincidir con los requerimientos internacionales en cuanto a regulación del tránsito y manejo con identidad preservada de los OGMs ya comercializados y eventualmente importados al país, encontrando a la fecha a los organismos fiscalizadores aún sin la capacidad técnica instalada de una forma efectiva para asegurar un correcto manejo de este material en nuestro país.

La próxima entrada en vigencia del conjunto de normas internacionales que regularán el comercio transfronterizo de OGMs bajo el marco del Protocolo de Bioseguridad y la creación en Chile del Comité Nacional Asesor en materias de bioseguridad, plantean en el corto y mediano plazo, la generación de núcleos técnicos nacionales capaces de evaluar cada uno de los componentes que comprende la generación y manipulación de OGMs en el país.

Bajo este contexto, Chile deberá ser capaz de decidir de manera oportuna ante el ingreso y/o desarrollo de determinados cultivos para adopción masiva por parte de nuestros productores, para la producción de contra-estación, para el consumo interno o para su comercialización. Estas decisiones, pese a que representan en definitiva una decisión de tipo político y económico, sin duda estarán sujetas a una evaluación técnica que se deberá llevar a cabo en períodos de decisión relativamente breves, requiriendo una capacidad técnica mínima

instalada, incluyendo a personal para ello capacitado. Chile es un país centro de origen de algunas especies en las cuales actualmente se está aplicando esta tecnología, lo que sirve de base para sustentar el desarrollo e implementación de este tipo de capacidades técnica de evaluación y trazabilidad de OGMs. El presente proyecto propone la generación de un centro técnico capaz de realizar la trazabilidad molecular del material transgénico que ingresa o se mueve en el país y evaluar su posible impacto sobre ecosistemas locales.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

7. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO

(Anexar además un plano o mapa de la ubicación del proyecto)

El proyecto será ejecutado técnicamente en tres centros: a) INIA - La Platina, b) SAG-Lo Aguirre y c) INIA-Remehue. a) y b) se ubican en la ciudad de Santiago, Región Metropolitana. c) se localiza en las cercanías de Osorno, X Región.

Todos estos puntos corresponden a centros tecnológicos con la capacidad de generar las respectivas etapas del proyecto, cubriendo de forma efectiva los diversos cultivos genéticamente modificados (GM) de interés. Estos corresponden a *Zea mays*, *Brassica napus* (canola) y *Solanum tuberosum*.

La Tabla I muestra un resumen de cultivos GM oficialmente introducidos al país y bajo regulación del CALT-SAG.

Tabla I. Material vegetal transgénico con y sin cuarentena de bioseguridad

FAMILIA	NOMBRE CIENTIFICO	MODIFICACIÓN	REGIONES	SUPERFICIE (hás)
Sin Cuarentena de bioseguridad				
Gramíneae	*Zea mays* (Maiz)	Resistencia a herbicida, Resistencia a lepidópteros	I, V, VI, VII, RM	27596*
Leguminaseae (Papilionaceae)	*Glycine max* (Soya)	Resistente a herbicida	V,VI, VII, RM	140*
Bajo Cuarentena de bioseguridad				
Cruciferae	*Brassica napus* (Canola)	Resistencia a herbicida	RM, VI, IX, X	202,7374
	Brassica junsea (Canola)	Resistencia a herbicida	IX	
	Brassica rapa (Canola)	Resistencia a herbicida	VII, IX	
Quenopodiaceae	*Beta vulgaris* (Remolacha)	Resistencia a herbicida	X	2
Gramíneae	*Zea mays* (Maíz)	Resistencia a herbicida, Resistencia a lepidópteros	I, V, VI, VII, RM	1.341,866
Solanaceae	*Lycopersicum esculentum* (Tomate)	Resistencia a insectos, Alto contenido de etileno	V, RM	1,1
	Solamun tuberosum (Papa)	Resistencia a insectos	X	0,23
Cucurbitaceae	*Cucumis melo* (Melon)	Resistencia a virus	RM	0,0049
Leguminaseae (Papilionaceae)	*Glycine max* (Soya)	Alto contenido ácido olieco, metionina y lisina	V, RM	5,75
Gramíneae	*Zea mays* (Maiz)	Alto contenido de lipasa gástrica del perro	VI	1,8

Fuente: CALT-SAG, 2001.
*Antecedentes ODEPA 1998.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

Según familia, estos cultivos tienen especies silvestres relacionadas, las que se indican brevemente en la Tabla II.

Tabla II. Especies silvestres nativas y naturalizadas presentes en Chile, que se comportan como malezas y que están relacionadas a nivel de género con transgénicos cultivados en Chile.

FAMILIA	NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	ORIGEN	FORMA DE VIDA	DISTRIBUCION
Cruciferae	*Brassica napus*	*Nabo*	*Europa*	*Anual o bianual*	*IV, RM, IX,X,XII*
	Brassica nigra	*Mostaza negra*	*Europa*	*Anual*	*V,RM,VIII*
	Brassica rapa	*Yuyo*	-	*Anual*	*II, IV-RM, VIII, X, XII*
Solanaceae	*Lycopersicon chilense*	*Tomatillo*	*A. del sur*	*Perenne*	*I- III, V*
	Lycopersicon peruvianum				*I-III*
	Solamun elaeagnifolium	*Tomatillo*	*América*	*Perenne*	*I-RM*
	Solanum marginatum	*Tomatillo*	*Africa*	*Perenne*	*V, VIII*
	Solanum nigrum	*Hierba mora*	*Europa*	*Anual*	*I-XI*

Fuente: Matthei (1995)

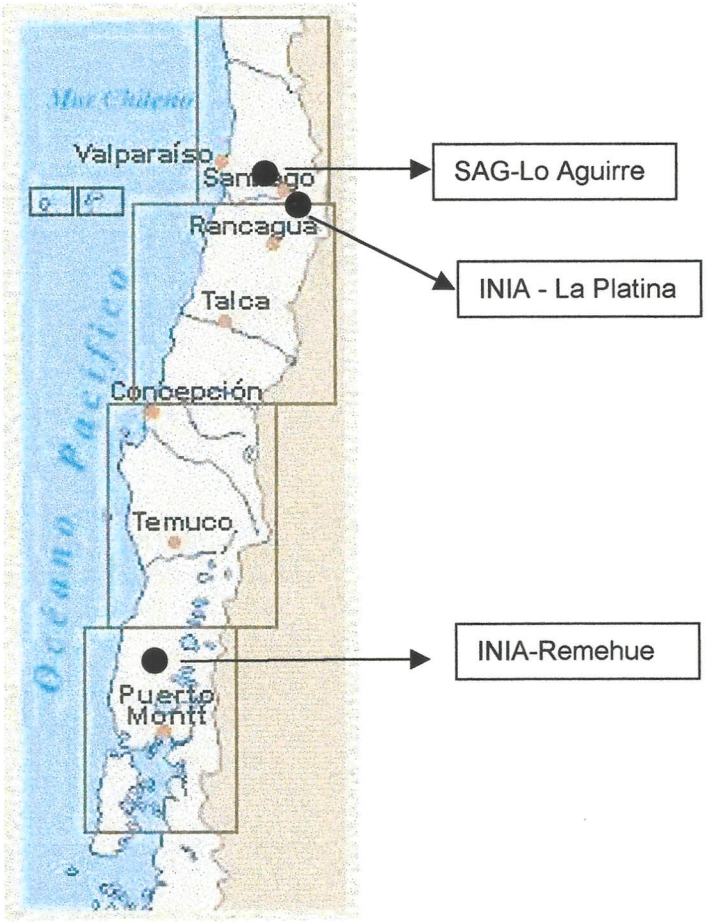
Además de las especies ya descritas, existen otras especies nativas de Chile, las cuales no se comportan como malezas y habitan ecosistemas naturales normalmente cercanos a campos cultivados. Por ejemplo, en chile existen 51 especies nativas de *Solanum* de los cuales cerca de un 50% son endémicas a Chile.

Las tres especies de *Brassica* descritas para Chile son introducidas y se comportan como maleza. Sin embargo existe un importante número de otras Crucíferas introducidas de géneros relacionados a *Brassica* que se localizan en o cercano a campos de cultivos. De hecho, Matthei (1995), registra 25 Crucíferas introducidas que se comportan como malezas en Chile y, Marticorena *et al.* (1990), registra un total de 191 especies de Crucíferas nativas para Chile.

Según estos antecedentes, se realizarán prospecciones (muestreos y colectas) sobre los campos específicos destinados a la multiplicación de cultivos GM con cercanía a cada uno de los centros descritos, con el objetivo de determinar presencia y/o abundancia de las especies relacionadas a los cultivos GM estudiados y muestros para el análisis de detección de transgenes. a) y b) cubrirán los cultivos de interés de la zona central-sur (V-IX) del país y c) cubrirá el cultivo de interés de la zona comprendida por las IX y X Regiones.

Los mapas de las zonas indicadas son los siguientes, mostrándose la zona específica de ubicación de los laboratorios y los puntos correspondientes a las prospecciones a realizar.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA



FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

8. OBJETIVOS DEL PROYECTO

8.1. GENERAL:

El objetivo general de este proyecto es generar en el país un centro de análisis de material transgénico en la zona central del país, concebido tanto desde el punto de vista de la trazabilidad molecular de los eventos que están siendo internados al país como desde el efecto que estos OGMs tienen sobre la biodiversidad local, lo que también se deberá evaluar para el material de elaboración nacional.

Se ha incluido en este objetivo la transferencia, de la forma más rápida posible, de los sistemas de trazabilidad molecular para el efectivo seguimiento y manejo con identidad preservada de los OGMs importados por parte del Servicio Agrícola y Ganadero, ente final regulador y primera barrera fitosanitaria del país. En este sentido, se enfatiza que la puesta en marcha del sistema de trazabilidad molecular está concebido como un sistema a ser utilizado, en el futuro cercano, íntegramente en el SAG; mientras que el grupo de investigación de INIA, estará destinado a constituir un centro de análisis, investigación (básica) y evaluación, de sistemas de medición del flujo génico entre cultivos GM y la flora silvestre local de interés, actividad en la que también el SAG participará activamente.

8.2. ESPECÍFICOS:

8.2.1. Desarrollar un sistema de trazabilidad molecular de material tipo GMO ingresado al país.

8.2.1.1. Desarrollo de técnicas de detección por PCR de los diversos eventos de plantas transgénicas ingresadas al país.

8.2.1.2. Transferir e implementar el sistema de trazabilidad y caracterización molecular a un centro regulador para su aplicación.

8.2.2. Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de plantas transgénicas importadas y desarrolladas en el país sobre especies silvestres relacionadas de interés nacional

8.2.2.1. Determinación de los grados de hibridación entre plantas transgénicas y relativas silvestres de interés nacional en invernaderos y en campos de producción nacionales.

8.2.3. Difusión y transferencia de resultados.

8.2.3.1. Desarrollo de diversas actividades de divulgación de resultados (artículos técnicos y científicos, seminarios) dirigidos a especialistas y público en general.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS
Y PROYECTOS

9. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS

(Describir en detalle la metodología y procedimientos a utilizar en la ejecución del proyecto)

9.1. *Metodología propuesta para cumplir con el Objetivo Específico Nº 1: Desarrollar un sistema de trazabilidad molecular de material tipo OGM ingresado al país.*

9.1.1. Sistema de muestreo de granos y/o semillas tipo OGM.

9.1.1.1. Muestreo de granos y/o semillas de material tipo OGM.

Existen normas nacionales establecidas sobre la metodología para la obtención de muestras para análisis de granos alimenticios (NCh531, Norma Chilena de Emergencia Oficial). Esta norma se aplica a cereales envasados o a granel y a legumbres envasadas. La recolección de las muestras primarias, que corresponderán a 1 kg. de grano o harina extraído de una parte del lote o en cierto momento durante la carga o descarga se hará en la proporción de una muestra por cada 5 toneladas de producto, aproximadamente. Para el caso de granos envasados, se extraerán muestras del número de envases en función del número total de envases del lote (NCh531). En la práctica, en el laboratorio se analizarán cada una de las muestras primarias. Este material se separará en 20 grupos, los cuales se molerán y se les extraerá el DNA.

9.1.1.2. Análisis estadístico.

El test está basado en que la probabilidad de que un grupo de muestras tenga resultado negativo (ausencia de producto de PCR) es una función del número de granos del grupo de muestras y de la frecuencia del evento negativo, en nuestro caso de la frecuencia de granos libres de GMO. (Tozzini, *et al.,* 2000).

9.1.2. Análisis molecular.

9.1.2.1. Desarrollo de técnicas de detección por PCR de los diversos eventos de plantas transgénicas ingresadas al país.

La reacción en cadena de polimerasa (PCR, "polimerase chain reaction") permite la amplificación de secuencias de DNA de una especie de forma que puedan ser visualizadas y manipuladas. Los componentes de esta reacción son el DNA de la especie que participa como molde de la secuencia a amplificar, un par de partidores de PCR de pequeño tamaño que se unen específicamente a sitios del DNA, la enzima que cataliza la reacción de polimerización del fragmento de interés y los cuatro desoxinucleótidos que forman la cadena de DNA. Por lo tanto la primera necesidad es la obtención de un DNA de calidad suficiente para lograr amplificar secuencias del DNA.

9.1.2.1. Extracción de DNA de tejido vegetal:

El protocolo que se utilizará está previamente descrito en Lodhi *et al.* (1994). Brevemente:

- Se macerará material fresco (hojas, raíces, yemas, etc.) en morteros con nitrógeno líquido y se agregará solución amortiguadora de extracción CTAB (EDTA 20 mM, Tris HCl 100mM pH 8,0, NaCl 1,4 M, CTAB (bromuro de hexadeciltrimetil amonio) 2% (P/V), β-mercaptoetanol 0,2% (V/V). Se homogeneizará en solución para a continuación agregar PVP (polivinilpolipirrolidina, 50 mg/0,5 g de tejido utilizado). Se incubará por 30 min a 65º C
- Luego, a los tubos incubados, se les adicionará mezcla cloroformo:alcohol isoamílico (24:1, 0,6 ml por cada 0,5 g de tejido utilizado) y se homogeneizará hasta formar una emulsión. Se centrifugará a 6.000 rpm por 15 min.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

- Se tomará la fase acuosa y se adicionarán 0,5 volúmenes de NaCl 0,5 M y 2 volumenes de etanol 95% frío, y a continuación se agitará en forma suave, para luego almacenarlo por 30 minutos a –20° C.
- Luego de la incubación, se centrifugará a 6.000 rpm por 15 minutos a 4° C. El "pellet" resultante se lavará con etanol al 70% y se dejará secar.
- El "pellet" se resuspenderá en 200 µl de solución TE y se les adicionará 2 µl de RNAasa A (10 µg/µl), y se incubará a 37° C por 15 minutos. Las muestras finalmente se almacenarán a 4° C cuando se estime conveniente.

Este protocolo está escrito para especies leñosas con alto contenido de polisacáridos y polifenoles. Por lo tanto, en esta etapa existirán modificaciones dependiendo de la especie y del tipo de tejido del cual se haga la extracción (hoja, fruto, raíz, etc.). Este procedimiento será también utilizado en el caso de muestras de granos o semillas, las que serán homogeneizadas mediante su congelamiento inicial en nitrógeno líquido y molienda en molinillos inoxidables que serán adquiridos especialmente para este tipo de tratamiento.

Un tratamiento alternativo de extracción de DNAs será utilizado en muestras que presenten algunos problemas debido a que los protocolos convencionales producen una baja concentración de DNA y un alto contenido de compuestos secundarios que pueden inhibir la reacción de PCR (esto ocurre preferentemente en alimentos). Este tipo de muestras será sometido al sistema de purificación "WizardR Magnetic DNA Purification System for Food", el cual ha sido probado en muestras de alimentos como semillas, harina y leche de soya, lecitinas y algunos aceites vegetales. Para ello:

- Se pesarán 200 mg de muestra y colocarán en un tubo de microcentrífuga de 2 ml. Se agregarán 500 µl de solución amortiguadora de lisis A y 5 µl de RNasa A. Se mezclará en vortex.
- Se agregarán 250 µl de solución amortiguadora de lisis B y mezclará en vortex por 10-15 segundos. Se incubará por 10 minutos a temperatura ambiente.
- Se agregarán 750 µl de solución de precipitación y mezclará en vortex vigorosamente. Se centrifugará a 15000 rpm por 10 min y se transferirá el sobrenadante a un tubo limpio.
- Se mezclará la suspensión de MagneSilTM PMPs, se agregarán 50 µl al sobrenadante y se mezclará.
- Se agregarán 0,8 volúmenes de isopropanol, mezclará e incubará por 5 min a temperatura ambiente.
- Se insertará el tubo en el soporte MagneSphereR Magnetic Separation y se mantendrá por 1 minuto, descartando la fase líquida.
- Se removerá el tubo del soporte y se agregarán 250 µl de solución amortiguadora de lisis B, permitiendo que las partículas MagneSilTM PMPs se separen por 1 min.
- Se agregará 1 ml de solución de lavado, se colocará el tubo en el soporte y remover tanto líquido como sea posible. Esto se repetirá 2 veces más.
- Las MagneSilTM PMPs serán secadas a temperatura ambiente por 15-30 min. y se agregarán 100 µl de agua libre de nucleasas. Esto se incubará por 5 min. a 65° C e insertará el tubo en el soporte magnético. El tubo será mantenido en el soporte y así se removerá el líquido a un tubo limpio.

9.1.2.2. Determinación de la calidad del DNA.

La cantidad de DNA y su calidad será un elemento vital para el éxito de la instauración del sistema de trazabilidad molecular. La calidad del DNA es muy importante determinarla,

debido a que se requiere una calidad mínima suficiente para no inhibir la reacción de PCR y generar falsos negativos.

Como primer acercamiento, se realizará una electroforesis del DNA resultante en geles de agarosa al 0,8%. La corrida se hará en soluciones amortiguadoras TBE 1X (Sambrook *et al.*, 1989) a 100 V. El DNA será visualizado tiñendo el gel con bromuro de etidio y expuesto a luz UV. La utilización de estándares de calidad sería posible en este paso si se utilizarán muestras de DNA fresco de la especie a la cual corresponde la muestra problema, determinándose así si el DNA esta íntegro o degradado, aunque ésta es sólo una opción.

9.1.2.3. Reacciones de PCR.

Para controlar si el DNA es capaz de no inhibir la reacción de PCR el laboratorio cuenta con varias alternativas que serán evaluadas y que principalmente utilizan las técnicas de marcadores moleculares.

Para algunas especies existen partidores de PCR que amplifican secuencias conservadas del genoma de la especie. De esta forma se corrobora la capacidad del DNA como templado de la reacción. En la medida de lo posible, se usarán partidores que amplifican secuencias de microsatélites (SSR, "simple sequence repeat"), que generan un solo fragmento de PCR y son específicos para la especie. Estos son controles más sensibles que aquellos marcadores que generan varios fragmentos de PCR, como es el caso de RAPD. Sin embargo, este último método también podría ser utilizado si no existen los microsatélites para la especie.

Por ejemplo, para maíz se utilizarán partidores derivados de un SSR ya descrito:
Maízforw: - 5´- CTTTCGTCATACACACACATTCA - 3´
Maízrev : - 5´- ATGGAGCATGAGCTTGAATATTT - 3´

Estos partidores generan un producto de PCR de 160 pares de bases (pbs) (bnlg 161:www.agron.missouri.edu/ Coop/ SSR1)

Para la soya se dispone del par de partidores:
Soyafor: - 5´- CTAGCCGTCATGCTAGTC - 3´
Soyarev: - 5´- TGCACGTCAAATTGCTG - 3´

Estos partidores generan un producto de PCR de cerca de 500 pbs.

Ambos pares de partidores de PCR requieren condiciones específicas de apareamiento definidas por la secuencia de los partidores. Para el caso del maíz la reacción de PCR contendrá la solución amortiguadora de PCR 1X (Tris-HCl 10 mM pH 8,3; KCl 50 mM y 0,01% de gelatina), 1,5 mM de $MgCl_2$, 0,1 mM de dNTPs y 0,25 μM de cada partidor además de 10-20 ng de DNA en un volumen final de 25 μl. El programa de temperaturas se aplicará en un termociclador PTC-100 (MJ Research Inc., USA) con un paso inicial de desnaturalización a 94 ° C por 3 minutos. Luego 35 ciclos de 94° C por 1 min, 45 seg. a 5...° C y 1 min a 72° C. y finalmente un paso de elongación a 72° C por 10 min. En este caso, también se incluirá una muestra de DNA de buena calidad de la especie problema.

9.1.2.4. Reacción de PCR específica.

Las plantas transgénicas usualmente presentan 3 elementos transgénicos esenciales: el transgén propiamente tal, que le da la característica deseada al nuevo cultivo GM; un promotor, que regula el nivel de expresión del transgén y un terminador, secuencia que indica el término de la transcripción del RNA mensajero (mRNA).

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

Según esto, el principio de la detección de los cultivos GM se basará, la mayor parte de las veces, en la detección de uno de estos elementos. Esto se debe a que por ejemplo, un estudio realizado en 1997 concluyó que 27 de 28 cultivos transgénicos aprovados para su cultivo en USA contenían el promotor denominado 35S (derivado del RNA 35S del virus del mosaico de la coliflor) o el terminador NOS (presente en el gen de la nopalina sintetasa de *Agrobacterium tumefaciens*) presente en la mayoría de los vectores de transformación utilizados en plantas hasta hoy (Hemmer, W. (1997). Los partidores de PCR para amplificar el promotor 35S son:

35S for: - 5´- GCTCCTACAAATGCCATCA - 3´
35S rev: - 5´- GATAGTGGGATTGTGCGTCA - 3´

Estos partidores producen un producto de PCR de 195 pbs.

La reacción de PCR contendrá la misma composición que en la reacción para amplificar el microsatélite de SSR de maíz (etapa 9.1.2.3.) y el programa de temperaturas será: 3 min. a 94° C de denaturación. 10 ciclos de 94° C por 1 min, 1 min de extensión y alineamiento con un gradiente de temperaturas que comienza a 67° C y finaliza a los 62° C (0,5° C/ciclo). Luego 25 ciclos manteniendo el alineamiento a 62° C. En el último paso se hará una extensión por 10 min a 72° C.

Para cada reacción se incluirá un control negativo con DNA de una muestra no transgénica.

9.1.3. Transferir e implementar el sistema de trazabilidad y caracterización molecular a un centro regulador para su aplicación.

Uno de los aspectos más importantes del establecimiento de un sistema molecular de trazabilidad, será el lograr un rápido y efectivo traspaso de la metodología y tecnología de análisis de cultivos GM al Laboratorio de la Unidad de Virología Agrícola del SAG-Lo Aguirre. Personal de este laboratorio (Ing. Agr. Alejandra Bustos y NN por definir), realizarán jornadas parciales de trabajo (al menos tres días a la semana) durante los meses de enero y febrero de 2002 junto al equipo de trabajo de INIA - La Platina (a cargo del Bq. Humberto Prieto), en el Laboratorio de Biotecnología, con el fin de afinar las técnicas de muestreo de semillas, extracción de DNA y análisis por PCR. Durante los meses de marzo a junio, el personal SAG trasladará los protocolos establecidos en INIA - La Platina hacia el Laboratorio de Virología Agrícola de SAG-Lo Aguirre.

Por lo tanto, la transferencia tecnológica contempla las etapas de:

a) Puesta en marcha y optimización de la tecnología de detección en el Laboratorio de Biotecnología de INIA - La Platina, con la participación de personal INIA - La Platina (Humberto Prieto) y personal designado de esta unidad del SAG (Alejandra Bustos y NN),

b) Transferencia e implementación en el Laboratorio de la Unidad de Virología Agrícola del SAG, ubicado en Lo Aguirre, a cargo del mismo personal del SAG capacitado en INIA - La Platina, con asesoría de Humberto Prieto y

c) Masificación del sistema de análisis de cultivos GM en el SAG como sistema regulador, a cargo de Alejandra Bustos y asesoría permanente de Humberto Prieto.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

9.2. Metodología propuesta para cumplir con el Objetivo Específico Nº 2. *Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de plantas transgénicas importadas y desarrolladas en el país sobre especies silvestres relacionadas de interés nacional.*

9.2.1. Determinación de los grados de hibridación entre plantas transgénicas y relativos silvestres en campos de producción nacionales.

9.2.1.1. Evaluación en campo para la formación de híbridos.

El sistema de prospección de híbridos entre cultivos GM y sus especies relacionadas se realizará para 2 cultivos: a) Canola y b) Maíz. Estos se seleccionaron por su alto número solicitudes de internación y liberación, por el gran número de especies nativas relacionadas presentes en Chile y porque, en caso particular de maíz, se levantó su cuarentena de bioseguridad reproductiva (ver **ítem 7**).

Características de los cultivos GM en estudio:

a) Canola (*Brassica napus*): Con liberaciones en la zona centro sur del país, zona de amplia abundancia relativa en cultivos de 3 malezas del género *Brassica*, *B. nigra*, *B. rapa* y *B. napus* y otras 25 malezas de géneros relacionados a *Brassica*.

b) Maíz (*Zea mays*): Con liberaciones en las regiones I, V, VI, VII, RM, con resistencia a herbicidas y lepidópteros, cubriendo una importante superficie (27.500 has. durante la temporada 98-99 (ODEPA, 1999)).

9.2.1.1.1. Aproximación experimental en *Brassica napus*.

Para determinar la eventual formación de híbridos en *Brassica*, se realizarán prospecciones en campos con cierta trayectoria respecto de su utilización como parcelas de producción de semillas o cultivos GM. El listado de sitios con Canola GM será suministrado en forma confidencial por el SAG. Estos sitios serán prospectados, previa autorización del propietario y se seleccionarán para muestreo aquellos en que se localicen con cierta abundancia, especies relacionadas ("malezas" o silvestres) creciendo tanto dentro como alrededor del campo de cultivo del GM, en una distancia de 300-400 m desde el borde del campo a evaluar. Este rango de distancia máxima de muestreo, se determinó considerando que estas especies a evaluar, además de ser polinizadas principlamente por abejas sociales (Frankel & Galum, 1977), también han registrado movimiento de polen por viento a distancias superiores a 360 m del borde del campo (Timmons *et al.* 1996), incrementando la distancia de flujo de polen esperable si la polinización ocurriese sólo por abejas.

Las plantas de taxa relacionadas a nivel de especie serán identificadas y marcadas, generándose un registro *in situ* en el área de estudio. Además se identificarán y marcarán las plantas de taxa de géneros de Crucífera relacionados. Esto, porque estudios anteriores, además de hibridación intragenérica (Jorgensen *et al.* 1996, Hauser *et al.*, 1996; Metz, *et al.*, 1997, Chevre *et al.*1998) también han registrado hibridación intergenérica, inclusive en transgénicos (Chèvre *et al.*, 1997, 1998, 1999).

En este experimento natural se cuantificarán tres tipos de parámetros:

a) Presencia de posibles híbridos ya establecidos

b) El porcentaje de semillas híbridas y

c) El porcentaje de plantas híbridas que aparecen en la próxima generación bajo condiciones normales de producción.

La presencia de híbridos transgénicos se detectará, en una primera aproximación, mediante resistencia a herbicida y posteriormente, los híbridos que resulten resistentes serán

analizados por PCR, tal como se describe en el punto 9.1.2.4., o por la aplicación de marcadores moleculares específicos del tipo SSR o AFLP.

9.2.1.1.1.1. Detección de híbridos por SSR.

La detección de alelos de SSR en la planta será la forma para detectar hibridación. Para el caso de las especies *B. napus* (genoma tetraploide AACC), *B. rapa* (genoma diploide AA) y *B. oleracea* (genoma diploide CC) los partidores de SSR 68/1, 83b1 y 72 A permiten reconocer los genomas A (alelo de 220 pb), C (alelos de 190 y 184 pb) y AC (alelos de 270 y 240 pb), respectivamente. En el caso de un híbrido triploide (AAC), también será reconocido por el partidor 72A (alelos de 270 y 240 pb) (Wilkinson *et al.*, 2000). Para el resto de las especies de *Brassica* analizadas se probarán los partidores publicados por Szewc-McFadden *et al.*. (1996). La reacción de PCR para amplificar los alelos de SSR se hará de forma similar a la descrita en el punto 9.1.2.3. Los productos de PCR se separarán en geles de poliacrilamida desnaturalizante (acrilamida: bis(19:1) al 6% con urea 7,5 M) y se visualizarán con tinción de plata de acuerdo al protocolo descrito en el sistema Silver Sequence™, DNA sequencing System (Promega).

9.2.1.1.2. Aproximación experimental en *Zea mays*.

La aproximación experimental a utilizar será muy similar a la propuesta para *Brassica*, con la diferencia de que se prospectará la formación de híbridos entre maíz GM x Maíz no GM. Esto debido a las razones de que: a) en Chile no hay relativos silvestres de Maíz, b) existe un importante germoplasma nativo de maíz que aún es cultivado por pequeños agricultores y c) el cultivo del maíz GM ha sido recientemente desregulado para su cultivo a gran escala.

Consecuentemente, se prospectarán eventos de hibridación en los campos de cultivos de maíces tradicionales de pequeños y mediados agricultores que estén localizados cercanos a los campos del cultivo GM. Se prospectará una área de muestreo alrededor del cultivo GM de 500-600 metros de los campos seleccionados. Lo anterior considerando que existe información de que el polen de maíz dispersado por viento puede alcanzar hasta 500 m desde la fuente de origen (Purseglove, 1972 en Crane & Walker, 1984).

Los parámetros y la metodología utilizadas para evaluar los posibles eventos de hibridación en maíz serán las mismas descritas para *Brassica*.

Para maíz existen partidores de SSR (www.agrom.missouri.edu/coop/ssr), que podrían diferenciar híbridos. Las condiciones de PCR se definirán para cada partidor específico y los productos de PCR se separarán en geles de poliacrilamida desnaturalizante (acrilamida: bis(19:1) al 6% con urea 7,5 M). Se visualizarán con tinción de plata de acuerdo al protocolo descrito en el sistema Silver Sequence™ DNA sequencing System (Promega).

La técnica de AFLP puede servir como alternativa a la detección de alelos de SSR para reconocer híbridos. En este caso el protocolo se hará de acuerdo a lo descrito por Vos *et al.* (1995). Esta metodología amplifica fragmentos al azar del genoma de una especie. Esta técnica presenta una etapa de digestión del DNA, otra de ligación de adaptadores a los fragmentos de digestión y una última etapa de amplificación. Se mezclan 0.25 µg DNA genómico, 2,5U de *Eco*RI, 2,5U de *Mse*I en buffer NEB 2 (50 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, pH 7.9, 10 mM MgCl2, 1 mM DDT) para un volumen final de 25 µl. La mezcla de reacción se incuba a 37° C por 3 hrs.

Brevemente, se mezclan los 25 µl de la mezcla de digestión con 2,5 pmoles de adaptadores *Eco*RI (5'-CTCGTAGACTGCGTACC/ CTGACGCATGGTTAA-5'), 2,5 pmoles de *Mse* I (5'- GACGATGAGTCCTGAG/ TACTCAGGACTCAT-5'), 10 U de T4 DNA Ligasa en buffer

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
FIA
MINISTERIO DE AGRICULTURA

ligasa (50mM Tris-HCl, pH 7.8, 10 mM MgCl2, 10 mM DTT, 1mM ATP, 5 ug/ml de BSA) a un volumen final de 30 µl. Se incuba toda la noche a 15° C.

Se toman 5 µl de una dilución 1/10 de la reacción de ligación y se mezclan con 1,5 mM de $MgCl_2$, 0,2 µM de partidores *Eco*RI+1 y *Mse*I+1, 0,1 mM de dNTPs y 2 U de *Taq* DNA Polimerasa en un volumen final de 50 µl. El programa de temperaturas de preamplificación consta de 2 min de desnaturalización a 94 ° C. 35 ciclos de 94° C por 30 sec, 55° C por 30 sec y 72° C por 1 min. Se diluyen los productos de PCR 10 veces y 5 µl de esto se mezclan con 0,25 µM de cada partidor *Eco*RI+3 y *Mse*I+3, 0,1 mM de dNTPs, 1,5 mM de $MgCl_2$ y 2 U de *Taq* DNA Polimerasa. El programa de temperaturas para este PCR es el siguiente: 3 min de desnaturalización a 94° C, luego 12 ciclos de 30 sec a 94° C, 65° C por 30 sec, bajando -0.7° C por ciclo hasta llegar a 56º C, 1 min a 72° C. Repetir 25 veces el ciclo de 94° C por 30 sec, 56° por 30 sec y72° C por 1 min. Finalmente se mantienen por 2 min a 72° C la reacción. Los Productos de PCR se visualizan en geles de poliacrilamida desnaturalizante (5.0% acrilamida/bisacrilamida (19:1), 7.5 M urea).por ciclo hasta llegar a 56º C, 1 min a 72° C. Repetir 25 veces el ciclo de 94° C por 30 sec, 56° por 30 sec y 72° C por 1 min. Finalmente se mantienen por 2 min a 72° C la reacción. Los Productos de PCR se visualizan en geles de poliacrilamida desnaturalizante (5.0% acrilamida/bisacrilamida (19:1), 7.5 M urea).

9.2.2. Entrecruzamiento forzado entre tansgénicos y relativos silvestres.

Entrecruzamiento forzado es definido en este proyecto como le cruzamiento asistido vía polinización manual entre el Cultivo GM y sus relativos silvestres. Esta aproximación permitirá establecer: a) si existe entrecruzamiento entre el cultivo GM y los relativos silvestres, b) el porcentaje de entrecruzamiento y c) si el transgén introgresado llega a ser estable y expresarse en las futuras generaciones formadas a partir de los híbridos iniciales. Este experimento se realizará con condiciones controladas de invernadero, tomando todas las medidas de seguridad, con el propósito de evitar el escape de los posibles "híbridos transgénicos". La ventaja de esta aproximación es que será posible evaluar si ocurre hibridación del cultivo GM tanto con relativos silvestres como con las especies nativas emparentadas. Los cultivos GM serán los mismos propuestos en 9.2.1.1., es decir, Canola y Maíz, más la evaluación adicional de Papas GM desarrolladas por INIA, que expresan resistencia para *Erwinia carotovora* y cuyo ensayo en campo confinado se ejecuta en el CRI-Remehue de este Instituto.

Para Canola GM, se evaluará entrecruzamiento con al menos 2 Cruciferas malezas y 2 especies nativas. Estas se definirán en base a su abundancia, localización en campos cultivados y áreas de vegetación nativas cercanas geográficamente a cultivos GM.

El caso Maíz no existen relativos silvestres cercanos en Chile, aunque se evaluará posible entrecruzamiento con *Sorghum halopense*, una maleza agresiva relativamente cerca de maíz del punto del vista filogenético. Este último cruzamiento se realizará teniendo en cuenta que se han obtenido híbridos *Zea mays* x *Sorghum bicolor* en condiciones forzadas aunque en muy baja frecuencia, normalmente estériles e inestables (James, 1978, 1979; CIMMYT, 1977, 1979).

En Papa se aplicará un criterio similar a *Brassica*. Es decir, un transgénico de papa será cruzado con al menos 2 relativos malezas y 2 *Solanum* nativos. Estos cruzamientos se realizarán en el Centro Regional de Investigación Remehue, X Región, por lo que los relativos silvestres a ser cruzados con la Papa GM serán los distribuidos dentro de dicha área geográfica.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

Las etapas de esta aproximación experimental incluyen:

- Selección de las especies a entrecruzar con el cultivo GM y colecta de sus semillas.
- Germinación y siembra del GM y los relativos silvestres seleccionados, tratando de sincronizar sus floraciones. En caso de no obtener sobreposición el polen será almacenado en condiciones apropiadas hasta uso.
- Polinización manual recíproca, usando cada progenitor tanto como dador y receptor de polen
- Conteo del número de semillas híbridas viables por fruto y planta
- Detección de semillas híbridas tansgénica usando herramientas moleculares
- Evaluación de taza de introgesión y expresión de los posibles híbridos transgénicos iniciales formados. Esto se hará en los tres subsiguientes años del proyecto.

9.2.2.1. Herramientas moleculares para el caso de papa.

Se utilizará trazabilidad por PCR y sistemas de selección *in vitro* utilizando kanamicina. Para PCR se detectará el promotor 35S. Este promotor se encuentra en las construcciones génicas que se usaron para este evento de transformación. El protocolo a seguir será igual al indicado en el punto 9.1.2.4.

9.3. Difusión y transferencia de resultados.

9.3.1. **Desarrollo de diversas actividades de divulgación de resultados (artículos técnicos y científicos, seminarios) dirigidos a especialistas y público en general.**

Una de las principales causas de la situación actual de la percepción pública frente a los cultivos GM ha sido la falta de información, tanto por parte de los organismos gubernamentales como de las propias empresas transnacionales que han desarrollado estas metodologías. Esto ha sido entendido así por estas últimas y ahora se cuenta con una completa propaganda de la tecnología y de contra-argumentión al trabajo desarrollado por los organismos ecologistas.

Desde el año 2000, el grupo de investigadores del Laboratorios de Biotecnología del INIA-La Platina viene haciendo charlas temporales (cada tres a cuatro meses) en liceos de comunas de la Región Metropolitana, llevando el tema de la biotecnología en general a este ávido auditorio.

Esta misma estrategia y preparación será empleada en el marco del presente proyecto. Se desarrollarán seminarios, foros y, en la medida de lo posible, documentos escritos (además de publicaciones en revistas internacionales) de adecuado acceso y lenguaje, según el tipo de público blanco. Se está en condiciones de cubrir tanto el ámbito de enseñanza secundaria como el de universitaria.

Se realizarán jornadas de extensión y acercamiento al tema de los cultivos GM a razón de dos al año. Para ello se cuenta con las instalaciones del INIA-La Platina y Remehue, así como los equipos para estas charlas.

Bibliografía general.

Ewen, S. y Prusztai, A. (1999). Effects of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivallis* lectin on rat small intestines. Lancet 354:1353-1355.

Chèvre, AM, Eber F, Barenger A & Renard M (1997) Gene flow from transgenic crops. Nature 389: 924.

Chèvre, AM, Eber F, Barenger A & Renard M (1998) Risk assessment on Crucifer species. Acta Horticulturae 459: 219-224.

Chèvre AM, Eber F, Renards M & Darmency H (1999) gene flow from oilseed rape to weeds. In Gene flow and Agriculture: relevance for transgenic crops. Proceeding of the symposium held at Keele, UK. Symposium Proceeding No. 72.

CIMMYT (1979) Maize. CIMMYT review 1979. 143 pp.

Conner A (1993) Monitoring "escapes" from field trials of transgenic potatoes: A basis for assesing environmental risks. In: Seminar on Scientific Aproaches for the Assessment of Research Trials with Genetically Modified Plants. Jouy-en-Josas, France, April 1992. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris. Pp 34-40.

Crane E & Walker (1984) Pollination Directory for World Crops. International Bee Research Association. London.

Dale P (1993) Potato general presentation. In: Seminar on Scientific Aproaches for the Assessment of Research Trials with Genetically Modified Plants. Jouy-en-Josas, France, April 1992. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris. Pp 12-20.

Handel, SN (1983) Pollination Ecology, Plant Population Structure, and Gene flow. In: Pollination Biology: 163-211 (Read, L, Ed.). Academic Press,

James J (1979) New types of maize x Tripsacum and maize x Sorghum hybrids – their use in maize improvement. Proceeding of the tenth meeting of the Maize and Sorghum Section of Eucarpia, 17-19 September, Varna, Bulgaria.

Lodhi, M.A., Ye, G., Weeden, N.F. y Reish, B.I. (1994). A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and *Vitis* species. Plant Mol. Biol. Rep. 12: 6-13.

Losey, J., Rayor, L. y Carter, M. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. Nature 399:214.

Marticorena C (1990) Contribución a la estadística de la flora de Chile. Gayana Botánica 47: 85-113

Matthei, O (1995) Manual de las Malezas que crecen en Chile. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.545 p.

Metz, PLJ, Jacobsen E, Nap JP, Pereira A & Stiekema WJ (1997) The impact on biosafety of the phosphinothricin-tolerance transgene in inter-specific Brassica rapa x B. napus hybrids and their successive backcrosses. Theor. Appl. Genet. 95: 442-450.

ODEPA (1999) Organismos vivos modificados y seguridad en la biotecnología. Posición del Ministerio de Agricultura. Unidad de Desarrollo sustentable, Oficina de estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Ministerio de Agricultura, Chile. Documento Borrador

Pequeño, M. (2000). Biosafety, Argentinian experience. En el XVII Seminario Panamericano de Semillas. Punta del Este, Uruguay, 20 al 22 de Noviembre de 2000.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

Sambrook, J., Fritsch, E. y Maniatis, T. (1989). En "Molecular cloning: a laboratory manual". Nolan, C. (Eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York, 2ª Ed.

Szewc-Mcfadden AK, Kresovich S, Bliek, SM, Mitchell SE, McFerson JR. (1996). Identification of polymorphic, conserved simple sequence repeats (SSRs) in cultivated *Brassica* species. Theoretical and Applied Genetics 93:534-538.

Timmons AM, YM Charters, JW Crawford *et al*. (1996). Risks from transgenic crops. Nature 380: 487.

Tozzini, A., Martinez, M.C., Asurmendi, S., López, M.V., Hopp, E. (2000). Analytical method for detection and quantification of GMOs in grains based on PCR. 2000.

Tynan J, M Willians & A Conner (1990) Low frecuency of pollen dispersal from a field of transgenic potatoes. Journal of Genetics and Breeding 44: 303-305.

Vos, P.,Hogers, R., Bleeker, M., van de Lee, T., Hornes, M., Fritjers, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. Y Zabeuau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. 23:4407-4414.

Wilkinson, M.J., Davenport, I.J., Charters, Y.M., Jones (2000). A direct regional scale estimate of transgene movement from genetically modified oilseed rape to its wild progenitors. Molecular Ecology 9, 983-991.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto).

AÑO 2002

Objetivo Especif. Nº	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
Todos	**1**	*Constitución del equipo de trabajo*	**02/01**	**15/01**
1.1	**2**	*Desarrollar un sistema de trazabilidad semillas:* **2.1. Implementar sistema de muestreo de granos y/o semillas.**	**02/01**	**01/ 02**
		2.2. Optimizar metodología de extracción de DNA de granos y/o semillas (*)	**02/01**	**01/03**
		2.3. Optimizar reacciones de amplificación por PCR de granos y/o semillas	**04/03**	**21/06**
1.1 y 1.2		**2.4. Análisis de rutina de granos y/o semillas GM (*)**	**04/03**	**31/05**
1.2	**4**	*Transferir e implementar el sistema de trazabilidad:* **3.1. Transferencia a laboratorio SAG (*)**	**03/06**	**28/06**
		3.2. Análisis de rutina en SAG	**01/07**	**30/11/05**
2.1	**4**	*Desarrollar un sistema de trazabilidad para formación de híbridos:* **4.1. Desarrollo de sistema de selección preliminar de híbridos**	**03/06**	**21/01/03**
		4.2. Desarrollo de sistema de extracción de DNA para cultivos GM	**04/03**	**30/07**
		4.3. Desarrollo de sistema de extracción de DNA para especies relativas	**05/08**	**31/12**

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

		4.4. Desarrollo de sistema de análisis por PCR para híbridos	**15/03**	**31/12**
		4.5. Desarrollo de sistema de análisis por marcadores moleculares	**15/03**	**31/12**
2.1	**5**	*Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de cultivos GM sobre relativos silvestres:* **5.1. Evaluación en campo para formación de híbridos** **5.1.1. Híbridos de *Brassica:*** **5.1.1.1. Selección de sitios 1 (*)**	**06/05**	**01/10**
		5.1.1.2. Prospección híbridos establecidos 1	**05/08**	**01/11**
		5.1.1.3. Detección relativos silvestres 1	**01/07**	**24/10**
		5.1.1.4. Marcaje y mapeo relativos 1	**01/07**	**24/10**
		5.1.1.5. Colecta de semillas relativos 1	**02/12**	**30/01/03**
		5.1.2. Híbridos de maíz: **5.1.2.1. Selección sitios 1 (*)**	**03/01**	**31/01**
		5.1.2.2. Localización campos no GM 1	**03/01**	**31/01**
		5.1.2.3. Colecta de semillas 1	**04/03**	**03/05**
		5.1.2.4. Detección preliminar híbridos 1	**06/05**	**04/10**
		5.1.2.5. Confirmación por PCR 1 (*)	**03/06**	**02/01/03**

2.1	6	*Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de cultivos GM sobre relativos silvestres:* **6.1. Ensayos de hibridación forzada** **6.1.1. Germinación y siembra GM y silvestres**	**03/05**	**31/12**
		6.1.2. Polinización recíproca (*)	**30/09**	**31/01/03**
		6.1.3. Conteo semillas	**03/12**	**30/04/03**
		6.1.4. Implementación de invernadero	**02/01**	**28/02**
3.1	7	*Difusión y transferencia:* **7.1. Jornada de extensión de la biotecnología 1**	**03/06**	**03/06**
		7.2. Jornada de extensión de la biotecnología 2	**11/11**	**11/11**

(*)= hito

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto).

AÑO 2003

Objetivo Especif. Nº	Actividad Nº	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
		Transferir e implementar el sistema de trazabilidad:		
1.2	3	**3.2. Análisis de rutina en SAG**	01/07/02	30/11/05
		Desarrollar un sistema de trazabilidad para formación de híbridos:		
		4.1. Desarrollo de sistema de selección preliminar de híbridos	03/06/02	21/01
2.1	4	**4.2. Aplicación de análisis por PCR**	02/01	28/06/05
		4.3. Aplicación de sistema de marcadores moleculares	02/01	28/06/05
		Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de cultivos GM sobre relativos silvestres:		
		5.1. Evaluación en campo para formación de híbridos		
		5.1.1. Híbridos de *Brassica:*		
		5.1.1.1. Selección de sitios 2 (*)	05/05	30/09
		5.1.1.2. Prospección híbridos establecidos 2	04/08	31/10
		5.1.1.3. Detección relativos silvestres 2	07/07	30/10
2.1	5	**5.1.1.4. Marcaje y mapeo relativos 2**	07/07	30/10
		5.1.1.5. Colecta de semillas relativos 1	02/12/02	30/01
		5.1.1.6. Colecta de semillas relativos 2	01/12	29/01/04

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

		5.1.1.7. Detección de híbridos por resistencia 1	06/01	04/06
		5.1.1.8. Confirmación de híbridos por PCR 1 (*)	03/03	03/10
		5.1.2. Híbridos de maíz:		
		5.1.2.1. Selección sitios 2 (*)	07/10/02	05/02
		5.1.2.2. Selección de sitios 3 (*)	06/10	04/02/04
		5.1.2.3. Localización campos no GM 2	07/10/02	05/02
		5.1.2.4. Localización campos no GM 3	06/10	04/02/04
		5.1.2.5. Colecta de semillas 2	03/03	28/04
		5.1.2.6. Detección preliminar híbridos 2	05/05	06/10
		5.1.2.7. Confirmación por PCR 1 (*)	03/06/02	02/01
		5.1.2.8. Confirmación por PCR 2 (*)	04/06	05/01/04
2.1	6	*Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de cultivos GM sobre relativos silvestres:* 6.1. Ensayos de hibridación forzada		
		6.1.1. Polinización recíproca (*)	30/09/02	31/01
		6.1.2. Conteo semillas	03/12/02	30/04
		6.1.3. Detección de semillas híbridas	06/02	04/11/05
3.1	7	*Difusión y transferencia:* 7.1. Jornada de extensión de la biotecnología 3	02/06	02/06
		7.2. Jornada de extensión de la biotecnología 4	10/11	10/11

(*)= hito

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto).

AÑO 2004

Objetivo Especif. Nº	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
1.2	3	*Transferir e implementar el sistema de trazabilidad:* **3.2. Análisis de rutina en SAG**	01/07/02	30/11/05
2.1	4	*Desarrollar un sistema de trazabilidad para formación de híbridos:* **4.1. Aplicación de análisis por PCR**	02/01/03	28/06/05
		4.3. Aplicación de sistema de marcadores moleculares	02/01/03	28/06/05
2.1	5	*Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de cultivos GM sobre relativos silvestres:* **5.1. Evaluación en campo para formación de híbridos** **5.1.1. Híbridos de *Brassica:*** **5.1.1.1. Selección de sitios 3 (*)**	03/05	28/09
		5.1.1.1. Prospección híbridos establecidos 3	02/08	29/10
		5.1.1.2. Detección relativos silvestres 3	05/07	28/10
		5.1.1.3. Marcaje y mapeo relativos 3	05/07	28/10
		5.1.1.4. Colecta de semillas relativos 2	01/12/03	29/01
		5.1.1.5. Colecta de semillas relativos 3	06/12	03/02/05

		5.1.1.6. Detección de híbridos por resistencia 2	**05/01**	**02/06**
		5.1.1.7. Confirmación de híbridos por PCR 2 (*)	**01/03**	**01/10**
		5.1.2. Híbridos de maíz:		
		5.1.2.1. Selección sitios 3 (*)	**06/10/03**	**04/02**
		5.1.2.2. Selección sitios 4 (*)	**04/10**	**02/02/05**
		5.1.2.3. Localización campos no GM 3	**06/10/03**	**04/02**
		5.1.2.4. Localización campos no GM 4	**04/10**	**02/02/05**
		5.1.2.5. Colecta de semillas 3	**01/03**	**26/04**
		5.1.2.6. Detección preliminar híbridos 3	**03/05**	**04/10**
		5.1.2.7. Confirmación por PCR 2 (*)	**04/06/03**	**05/01**
		5.1.2.8. Confirmación por PCR 3 (*)	**07/06**	**06/01/05**
2.1	**6**	*Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de cultivos GM sobre relativos silvestres:* **6.1. Ensayos de hibridación forzada** **6.1.1. Detección de semillas híbridas**	**06/02/03**	**04/11/05**
3.1	**7**	*Difusión y transferencia:* **7.1. Jornada de extensión de la biotecnología 5** **7.2. Jornada de extensión de la biotecnología 6**	**07/06** **08/11**	**07/06** **08/11**

(*)= hito

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto) (*)= hito

AÑO 2005

Objetivo Especif. Nº	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
		Transferir e implementar el sistema de trazabilidad:		
1.2	**3**	**3.2. Análisis de rutina en SAG**	**01/07/02**	**30/11**
		Desarrollar un sistema de trazabilidad para formación de híbridos:		
2.1	**4**	**4.1. Aplicación de análisis por PCR**	**02/01/03**	**28/06**
		4.2. Aplicación de sistema de marcadores moleculares	**02/01/03**	**28/06**
		Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de cultivos GM sobre relativos silvestres:		
		5.1. Evaluación en campo para formación de híbridos.		
		5.1.1. Híbridos de *Brassica:*		
		5.1.1.1. Marcaje y mapeo relativos 4	**04/07**	**27/10**
		5.1.1.2. Colecta de semillas relativos 3	**06/12/04**	**03/02**
		5.1.1.3. Detección de híbridos por resistencia 3	**03/01**	**01/06**
2.1	**5**	**5.1.1.4. Confirmación de híbridos por PCR 3 (*)**	**05/04**	**07/11**

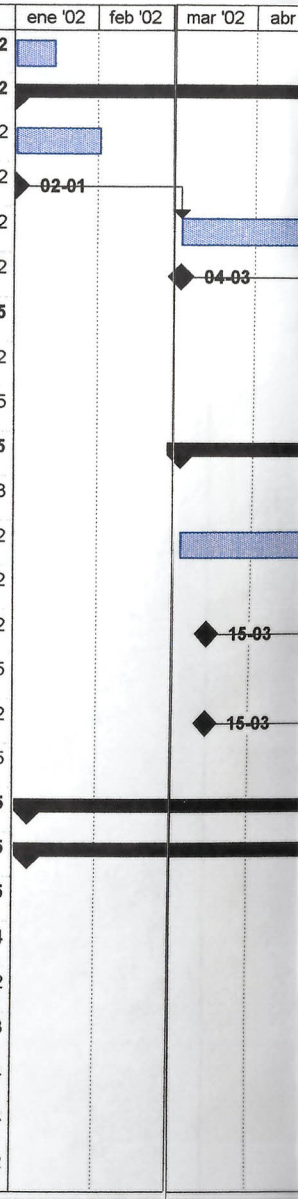
FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

		5.1.2. Híbridos de maíz:		
		5.1.2.1. Selección sitios 4 (*)	**04/10/04**	**02/02**
		5.1.2.2. Localización campos no GM 4	**04/10/04**	**02/02**
		5.1.2.3. Colecta de semillas 4	**07/03**	**02/05**
		5.1.2.4. Detección híbridos 4	**02/05**	**03/10**
		5.1.2.5. Confirmación por PCR 3 (*)	**07/06/04**	**06/01**
		5.1.2.6. Confirmación por PCR 4 (*)	**05/04**	**04/11**
2.1	**6**	*Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de cultivos GM sobre relativos silvestres:* **6.1. Ensayos de hibridación forzada** **6.1.1. Detección de semillas híbridas**	**06/02/03**	**04/11**
3.1	**7**	*Difusión y transferencia:* **7.1. Jornada de extensión de la biotecnología 7** **7.2. Jornada de extensión de la biotecnología 8**	**06/06** **14/11**	**06/06** **14/11**

(*)= hito

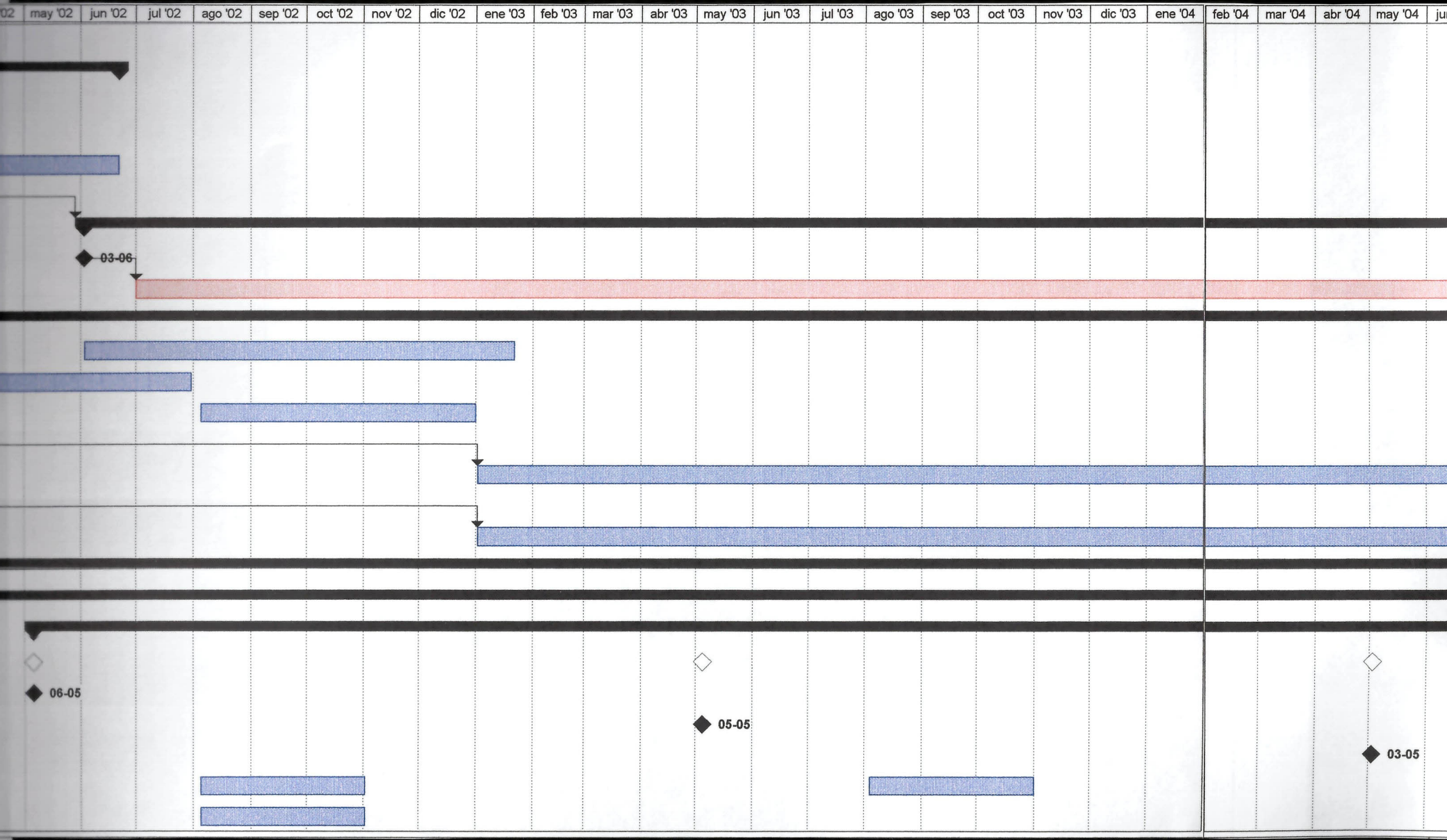
FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

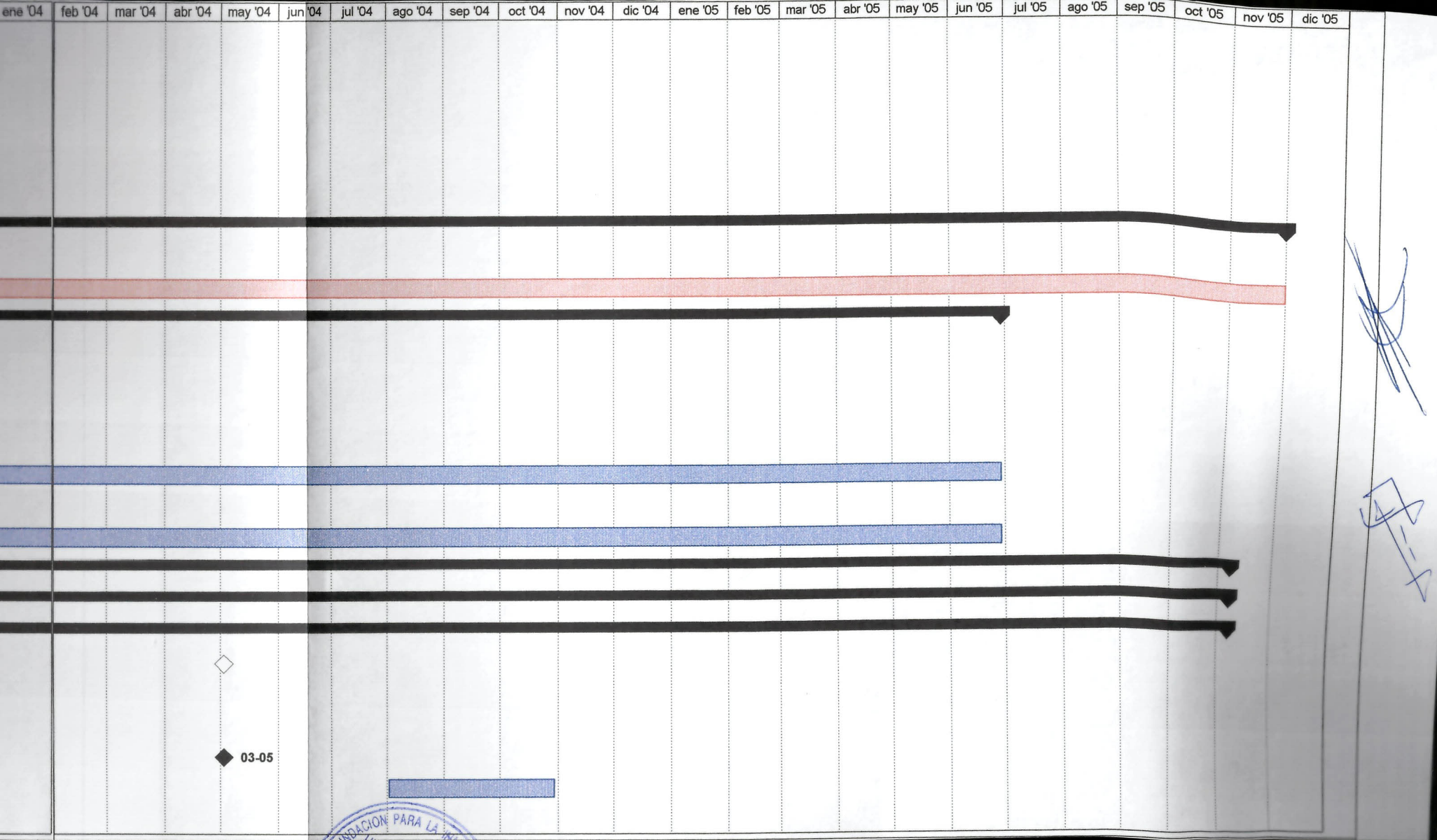
Id	Nombre de tarea	Comienzo	Fin
1	**Organización y conformación del equipo de trabajo**	**mi 02-01-02**	**ma 15-01-02**
2	**Desarrollar un sistema de trazabilidad molecular de material tipo GMO ingresado al país.**	**mi 02-01-02**	**vi 21-06-02**
3	Implementar sistema de muestreo de granos y/o semillas	mi 02-01-02	vi 01-02-02
4	Optimizar metodología de extracción de DNA	mi 02-01-02	vi 01-03-02
5	Optimizar reacciones de amplificación por PCR	lu 04-03-02	vi 21-06-02
6	Análisis de rutina	lu 04-03-02	vi 31-05-02
7	**Transferir e implementar el sistema de trazabilidad y caracterización molecular a un centro regulador para su aplicación.**	**lu 03-06-02**	**mi 30-11-05**
8	Transferencia a laboratorio regulador	lu 03-06-02	vi 28-06-02
9	Análisis de rutina en el SAG	lu 01-07-02	mi 30-11-05
10	**Desarrollo de sistema de trazabilidad para formación de híbridos**	**lu 04-03-02**	**ma 28-06-05**
11	Desarrollo de sistema de selección preliminar por herbicidas (antibióticos)	lu 03-06-02	ma 21-01-03
12	Desarrollo de sistemas de extracción de DNA para cultivos GM	lu 04-03-02	ma 30-07-02
13	Desarrollo de sistema de extracción de DNA de especies relacionadas colectadas	lu 05-08-02	ma 31-12-02
14	Desarrollo de sistema de análisis por PCR	vi 15-03-02	ma 31-12-02
15	Aplicación de análisis por PCR	ju 02-01-03	ma 28-06-05
16	Desarrollo de sistema de análisis por marcadores moleculares específicos	vi 15-03-02	ma 31-12-02
17	Apilicación del sistema de marcadores moleculares específicos	ju 02-01-03	ma 28-06-05
18	**Desarrollar un sistema de evaluación del impacto de plantas GM importadas y desarrolladas en el país sobre relativos silvestres**	**lu 07-01-02**	**lu 07-11-05**
19	**Evaluación en campo para formación de híbridos**	**lu 07-01-02**	**lu 07-11-05**
20	**Detección de híbridos en Brassica**	**lu 06-05-02**	**lu 07-11-05**
21	**Selección de sitios**	**lu 06-05-02**	**ma 28-09-04**
22	Selección de sitios año 1	lu 06-05-02	ma 01-10-02
23	Selección de sitios año 2	lu 05-05-03	ma 30-09-03
24	Selección de sitios año 3	lu 03-05-04	ma 28-09-04
25	**Prospección de posibles híbridos establecidos**	**lu 05-08-02**	**vi 29-10-04**
26	Prospección de posibles híbridos establecidos año 1	lu 05-08-02	vi 01-11-02



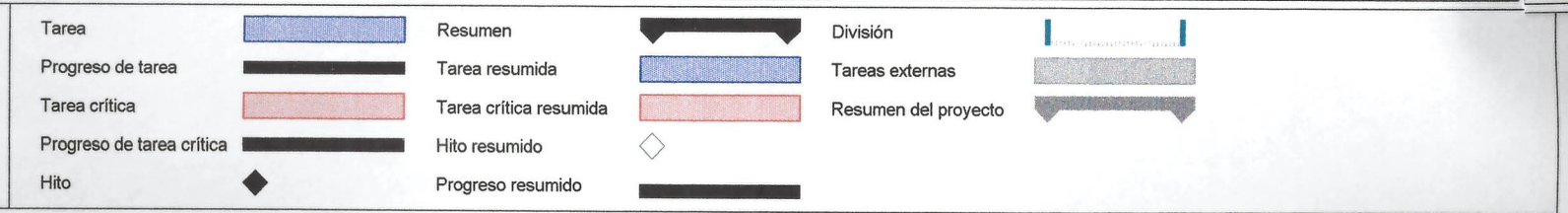
Proyecto: actividades
Fecha: do 23-12-01

Tarea		Resumen		División	
Progreso de tarea		Tarea resumida		Tareas externas	
Tarea crítica		Tarea crítica resumida		Resumen del proyecto	
Progreso de tarea crítica		Hito resumido			
Hito		Progreso resumido			

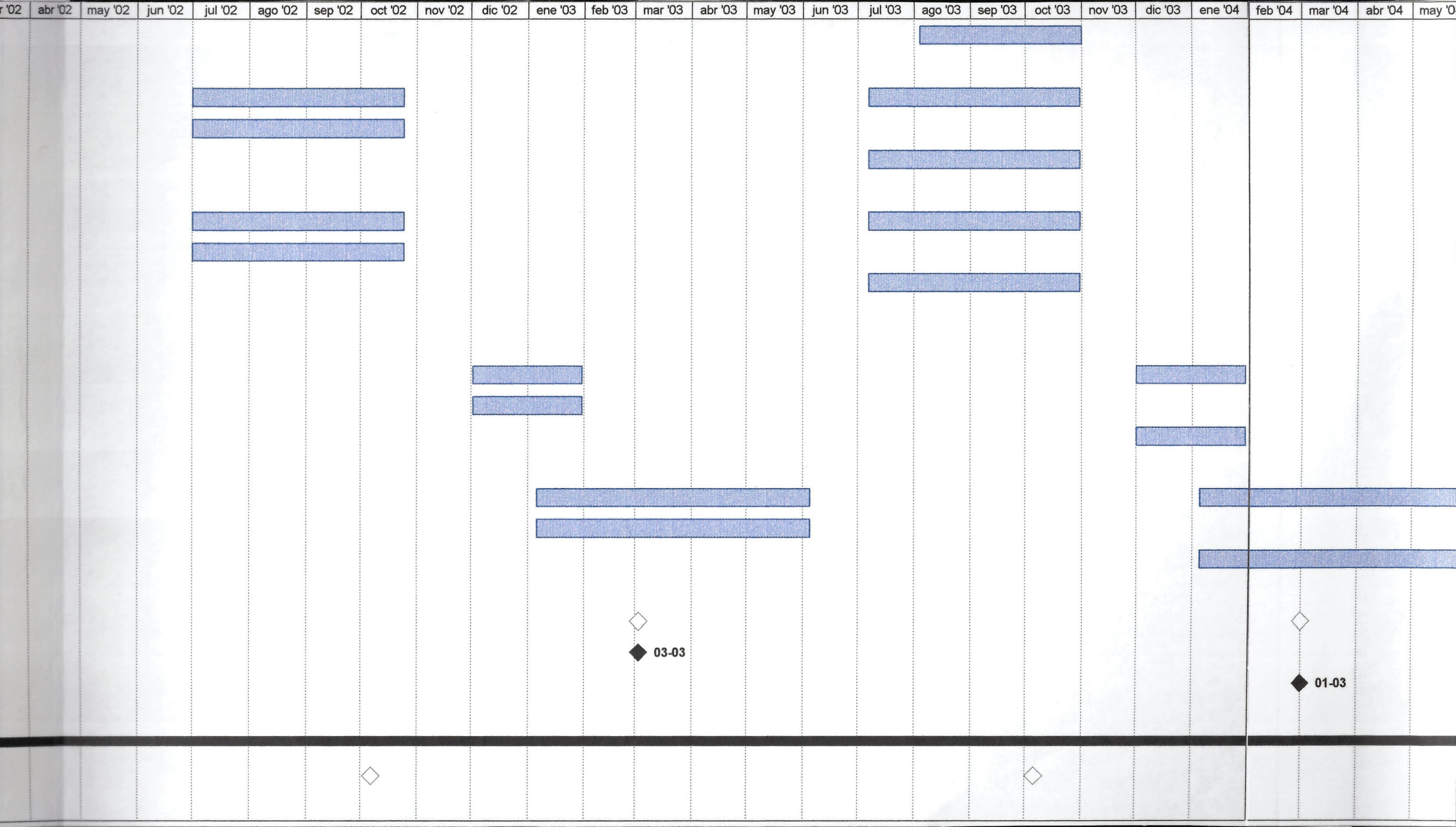

02
may '02
jun '02
jul '02
ago '02
sep '02
oct '02
nov '02
dic '02
ene '03
feb '03
mar '03
abr '03
may '03
jun '03
jul '03
ago '03
sep '03
oct '03
nov '03
dic '03
ene '04
feb '04
mar '04
abr '04
may '04
03-06
06-05
05-05
03-05

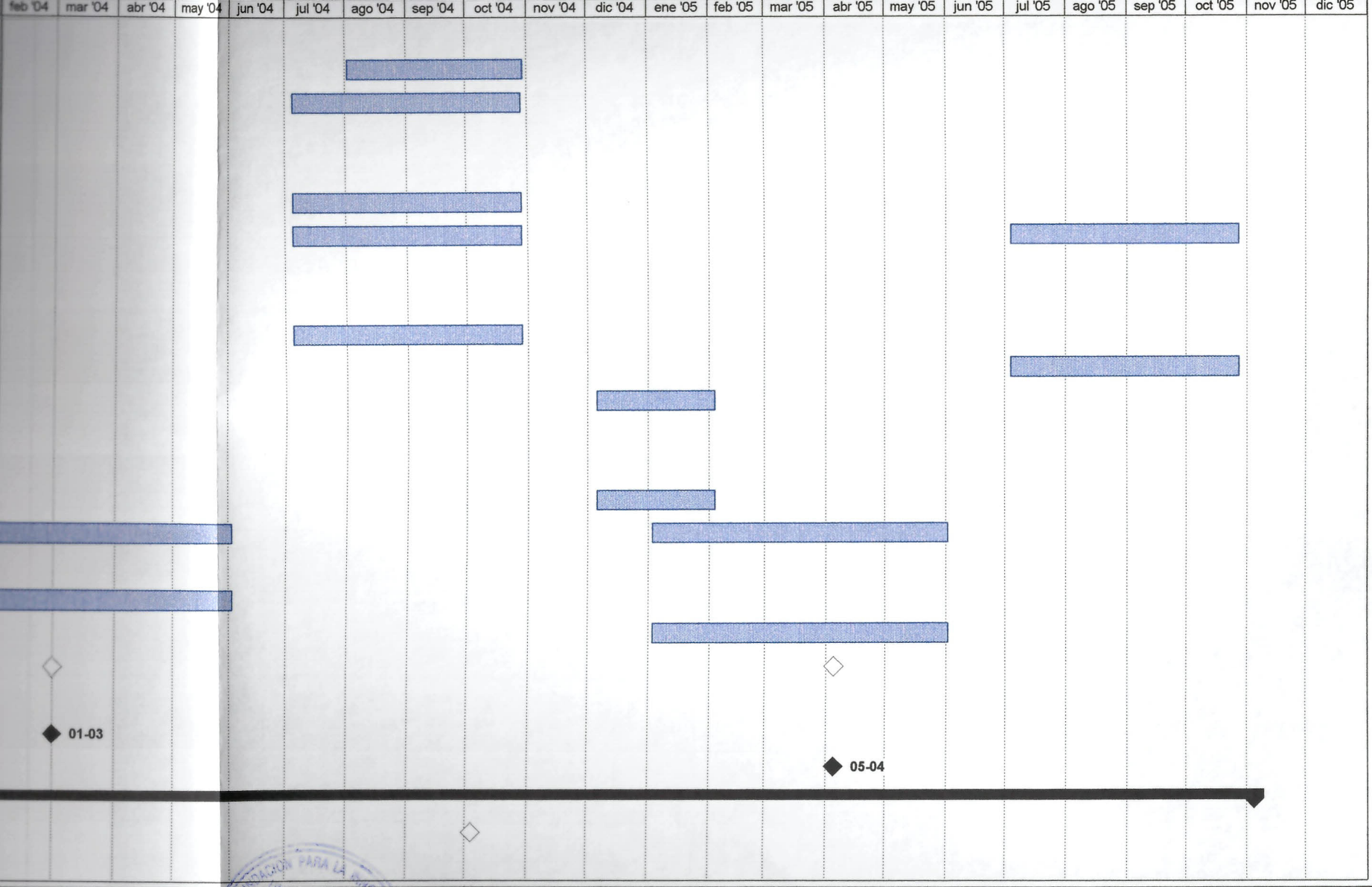

ene '04
feb '04
mar '04
abr '04
may '04
jun '04
jul '04
ago '04
sep '04
oct '04
nov '04
dic '04
ene '05
feb '05
mar '05
abr '05
may '05
jun '05
jul '05
ago '05
sep '05
oct '05
nov '05
dic '05
03-05

Id	Nombre de tarea	Comienzo	Fin
27	Prospección de posibles híbridos establecidos año 2	lu 04-08-03	vi 31-10-03
28	Prospección de posibles híbridos establecidos año 3	lu 02-08-04	vi 29-10-04
29	**Detección de presencia de relativos silvestres**	**lu 01-07-02**	**ju 28-10-04**
30	Detección de presencia de relativos silvestres año 1	lu 01-07-02	ju 24-10-02
31	Detección de presencia de relativos silvestres año 2	lu 07-07-03	ju 30-10-03
32	Detección de presencia de relativos silvestres año 3	lu 05-07-04	ju 28-10-04
33	**Marcaje y mapeo de relativos silvestres**	**lu 01-07-02**	**ju 27-10-05**
34	Marcaje y mapeo de relativos silvestres año 1	lu 01-07-02	ju 24-10-02
35	Marcaje y mapeo de relativos silvestres año 2	lu 07-07-03	ju 30-10-03
36	Marcaje y mapeo de relativos silvestres año 3	lu 05-07-04	ju 28-10-04
37	Marcaje y mapeo de relativos silvestres año 4	lu 04-07-05	ju 27-10-05
38	**Colecta de semillas de relativos silvestres**	**lu 02-12-02**	**ju 03-02-05**
39	Colecta de semillas de relativos silvestres año 1	lu 02-12-02	ju 30-01-03
40	Colecta de semillas de relativos silvestres año 2	lu 01-12-03	ju 29-01-04
41	Colecta de semillas de relativos silvestres año 3	lu 06-12-04	ju 03-02-05
42	**Detección de híbridos por resistencia a herbicidas**	**lu 06-01-03**	**mi 01-06-05**
43	Detección de híbridos por resistencia a herbicidas año 1	lu 06-01-03	mi 04-06-03
44	Detección de híbridos por resistencia a herbicidas año 2	lu 05-01-04	mi 02-06-04
45	Detección de híbridos por resistencia a herbicidas año 3	lu 03-01-05	mi 01-06-05
46	**Confirmación de híbridos por PCR**	**lu 03-03-03**	**lu 07-11-05**
47	Confirmación de híbridos por PCR año 1	lu 03-03-03	vi 03-10-03
48	Confirmación de híbridos por PCR año 2	lu 01-03-04	vi 01-10-04
49	Confirmación de híbridos por PCR año 3	ma 05-04-05	lu 07-11-05
50	**Detección de híbridos en maíz**	**lu 07-01-02**	**vi 04-11-05**
51	**Selección de sitios**	**lu 07-01-02**	**mi 02-02-05**
52	Selección de sitios año 1	lu 07-01-02	ju 07-03-02



Proyecto: actividades
Fecha: do 23-12-01


r '02
abr '02
may '02
jun '02
jul '02
ago '02
sep '02
oct '02
nov '02
dic '02
ene '03
feb '03
mar '03
abr '03
may '03
jun '03
jul '03
ago '03
sep '03
oct '03
nov '03
dic '03
ene '04
feb '04
mar '04
abr '04
may '0
03-03
01-03

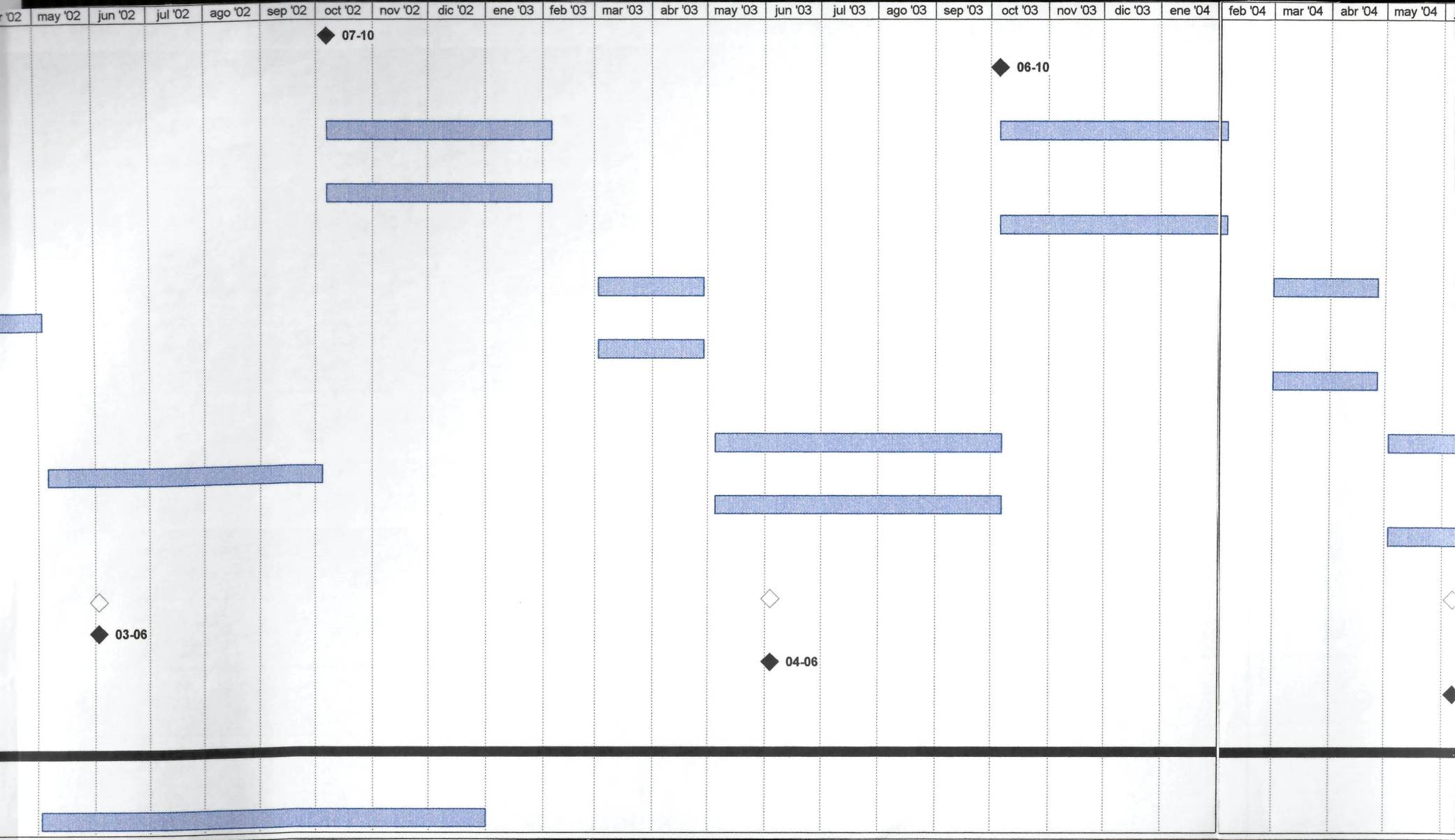

feb '04
mar '04
abr '04
may '04
jun '04
jul '04
ago '04
sep '04
oct '04
nov '04
dic '04
ene '05
feb '05
mar '05
abr '05
may '05
jun '05
jul '05
ago '05
sep '05
oct '05
nov '05
dic '05
01-03
05-04

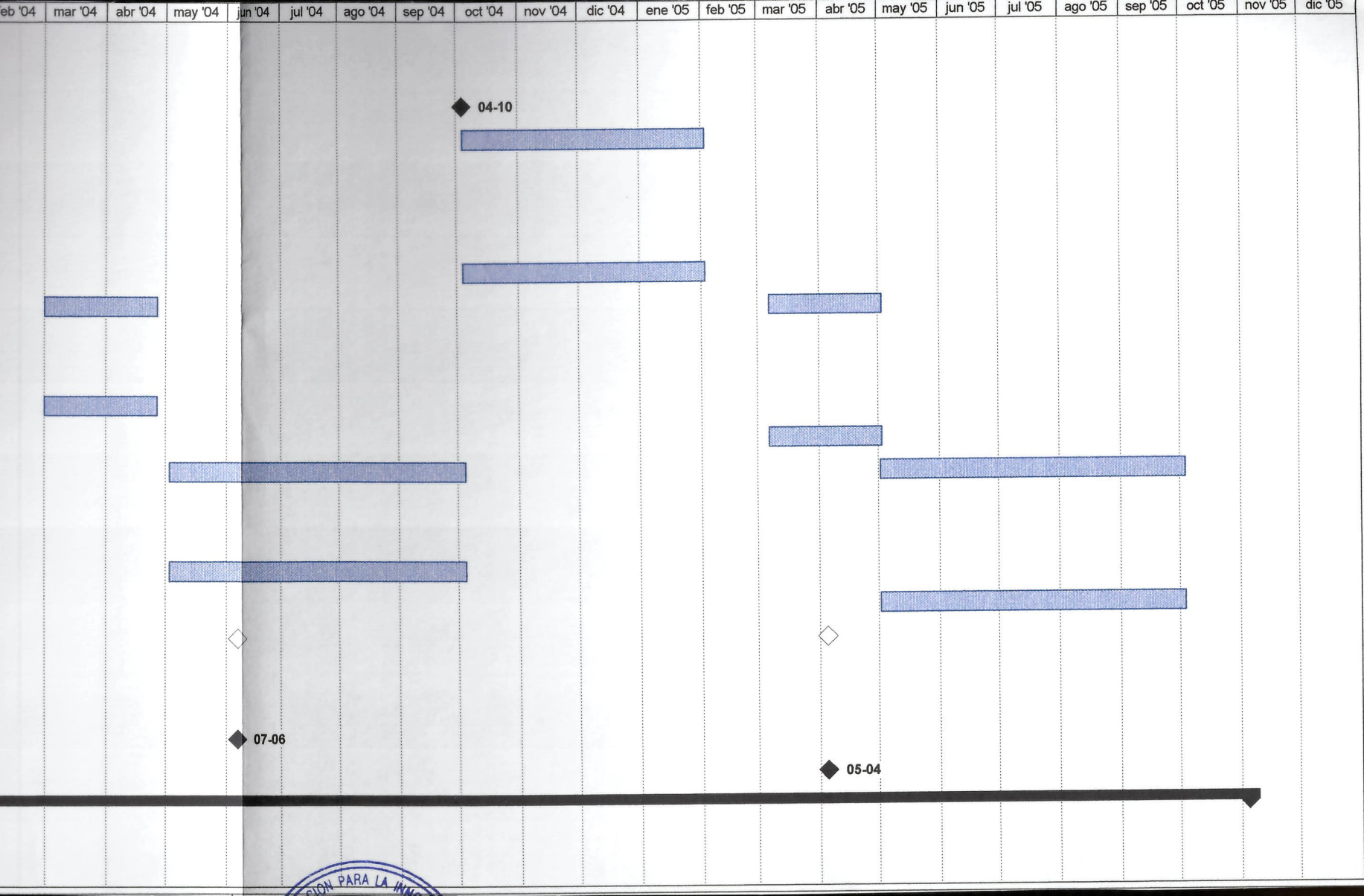
Id	Nombre de tarea	Comienzo	Fin
53	Selección de sitios año 2	lu 07-10-02	mi 05-02-03
54	Selección de sitios año 3	lu 06-10-03	mi 04-02-04
55	Selección de sitios año 4	lu 04-10-04	mi 02-02-05
56	**Localización de campos de maíz cultivado no GM cercanos**	**lu 07-01-02**	**mi 02-02-05**
57	Localización de campos de maíz cultivado no GM cercanos año 1	lu 07-01-02	ju 31-01-02
58	Localización de campos de maíz cultivado no GM cercanos año 2	lu 07-10-02	mi 05-02-03
59	Localización de campos de maíz cultivado no GM cercanos año 3	lu 06-10-03	mi 04-02-04
60	Localización de campos de maíz cultivado no GM cercanos año 4	lu 04-10-04	mi 02-02-05
61	**Colecta de semillas**	**lu 04-03-02**	**lu 02-05-05**
62	Colecta de semillas año 1	lu 04-03-02	vi 03-05-02
63	Colecta de semillas año 2	lu 03-03-03	lu 28-04-03
64	Colecta de semillas año 3	lu 01-03-04	lu 26-04-04
65	Colecta de semillas año 4	lu 07-03-05	lu 02-05-05
66	**Detección de híbridos por resistencia a herbicidas**	**lu 06-05-02**	**lu 03-10-05**
67	Detección de híbridos por resistencia a herbicidas año 1	lu 06-05-02	vi 04-10-02
68	Detección de híbridos por resistencia a herbicidas año 2	lu 05-05-03	lu 06-10-03
69	Detección de híbridos por resistencia a herbicidas año 3	lu 03-05-04	lu 04-10-04
70	Detección de híbridos por resistencia a herbicidas año 4	lu 02-05-05	lu 03-10-05
71	**Confirmación de híbridos por PCR**	**lu 03-06-02**	**vi 04-11-05**
72	Confirmación de híbridos por PCR año 1	lu 03-06-02	ju 02-01-03
73	Confirmación de híbridos por PCR año 2	mi 04-06-03	lu 05-01-04
74	Confirmación de híbridos por PCR año 3	lu 07-06-04	ju 06-01-05
75	Confirmación de híbridos por PCR año 4	ma 05-04-05	vi 04-11-05
76	**Ensayos de hibridación forzada**	**lu 07-01-02**	**vi 04-11-05**
77	Implementación de invernadero	lu 07-01-02	ju 31-01-02
78	Germinación y siembra del cultivo GM y los relativos silvestres seleccionados	vi 03-05-02	ma 31-12-02

Tarea
Progreso de tarea
Tarea crítica
Progreso de tarea crítica
Hito
Resumen
Tarea resumida
Tarea crítica resumida
Hito resumido
Progreso resumido
División
Tareas externas
Resumen del proyecto

Proyecto: actividades
Fecha: do 23-12-01

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROGRAMAS
FIA
MINISTERIO DE AGRICULTURA


may '02
jun '02
jul '02
ago '02
sep '02
oct '02
nov '02
dic '02
ene '03
feb '03
mar '03
abr '03
may '03
jun '03
jul '03
ago '03
sep '03
oct '03
nov '03
dic '03
ene '04
feb '04
mar '04
abr '04
may '04
07-10
06-10
03-06
04-06


eb '04
mar '04
abr '04
may '04
jun '04
jul '04
ago '04
sep '04
oct '04
nov '04
dic '04
ene '05
feb '05
mar '05
abr '05
may '05
jun '05
jul '05
ago '05
sep '05
oct '05
nov '05
dic '05
04-10
07-06
05-04

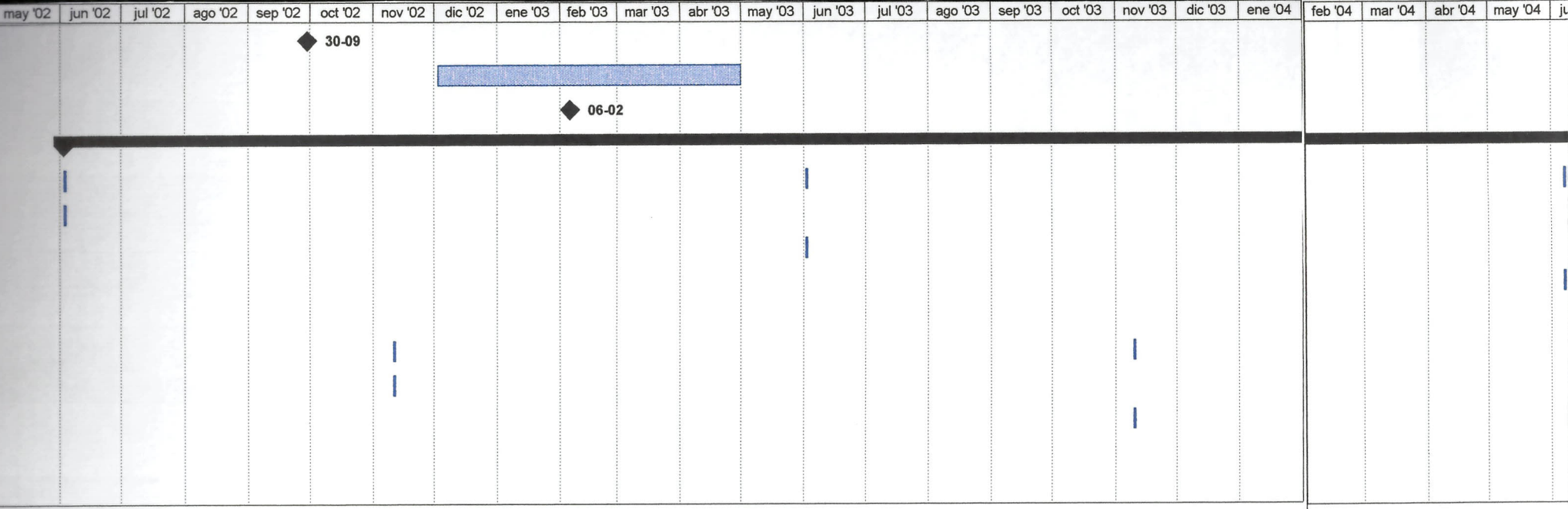
Id	Nombre de tarea	Comienzo	Fin
79	Experimentos de polinización recíproca	lu 30-09-02	vi 31-01-03
80	Conteo de semillas	ma 03-12-02	mi 30-04-03
81	Detección de semillas híbridas por biología molecular	ju 06-02-03	vi 04-11-05
82	**Difusión y transferencia de resultados**	**lu 03-06-02**	**lu 14-11-05**
83	**Jornada 1**	**lu 03-06-02**	**lu 06-06-05**
84	Jornada 1 1	lu 03-06-02	lu 03-06-02
85	Jornada 1 2	lu 02-06-03	lu 02-06-03
86	Jornada 1 3	lu 07-06-04	lu 07-06-04
87	Jornada 1 4	lu 06-06-05	lu 06-06-05
88	**Jornada 2**	**lu 11-11-02**	**lu 14-11-05**
89	Jornada 2 1	lu 11-11-02	lu 11-11-02
90	Jornada 2 2	lu 10-11-03	lu 10-11-03
91	Jornada 2 3	lu 08-11-04	lu 08-11-04
92	Jornada 2 4	lu 14-11-05	lu 14-11-05

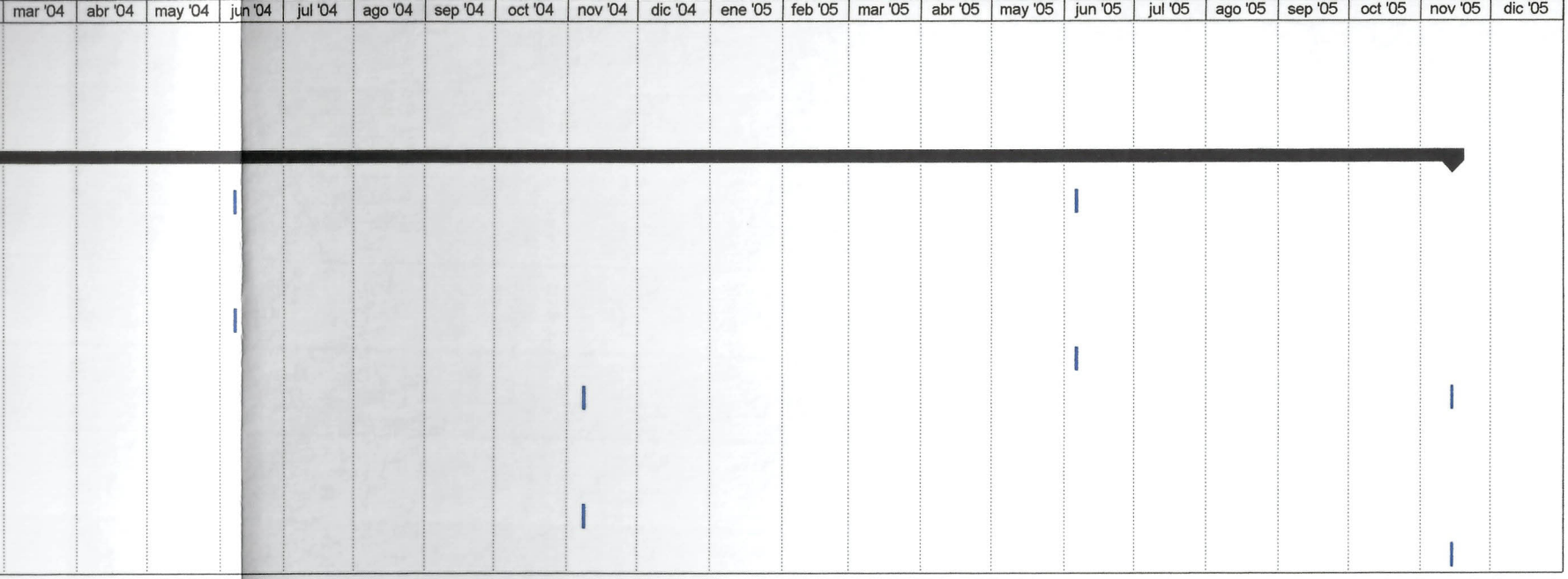
ene '02 | feb '02 | mar '02 | abr '02 | may

Tarea
Progreso de tarea
Tarea crítica
Progreso de tarea crítica
Hito
Resumen
Tarea resumida
Tarea crítica resumida
Hito resumido
Progreso resumido
División
Tareas externas
Resumen del proyecto

Proyecto: actividades
Fecha: do 23-12-01

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA


may '02
jun '02
jul '02
ago '02
sep '02
oct '02
nov '02
dic '02
ene '03
feb '03
mar '03
abr '03
may '03
jun '03
jul '03
ago '03
sep '03
oct '03
nov '03
dic '03
ene '04
feb '04
mar '04
abr '04
may '04
30-09
06-02


mar '04
abr '04
may '04
jun '04
jul '04
ago '04
sep '04
oct '04
nov '04
dic '04
ene '05
feb '05
mar '05
abr '05
may '05
jun '05
jul '05
ago '05
sep '05
oct '05
nov '05
dic '05

11. RESULTADOS ESPERADOS E INDICADORES

11.1. Resultados esperados por objetivo

Obj. Esp. Nº	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
				Meta	Plazo
1.1.	Técnicas moleculares basadas en PCR para detectar transgenes en granos y/o semillas tipo OGMs	Un sistema de análisis por PCR para análisis de granos y/o semillas tipo OGM en SAG-Lo Aguirre	Transferir sistema de detección por PCR a laboratorio de trazabilidad del SAG	Analizar rutinaria-mente por PCR semillas y/o granos tipo OGMs	31/05/02
1.2	Sistema de trazabilidad molecular para granos y/o semillas tipo OGM importadas al país	Una unidad de análisis de rutina de embarques de granos y/o semillas tipo OGM en SAG-Lo Aguirre	Laboratorio de rutina para este análisis en SAG	Tener un sistema de trazabilidad molecular transferido	28/06/02
1.2	Sistema de detección preliminar de híbridos entre cultivos GM y relativos silvestres	Una metodología preliminar de detección de híbridos a través de resistencias incorporadas por el transgén	Establecer un primer sistema de escrutinio masivo de posibles eventos de hibridación	Desarrollar un sistema de selección preliminar de híbridos en herbicidas o antibióticos	21/01/03
1.2	Sistema de detección por PCR de híbridos entre cultivos GM y relativos silvestres	Una Metodología de detección específica de transgenes en genomas vegetales de *Brassica*, maíz y papa utilizando PCR	Establecer un sistema de PCR para escrutinio rápido de posibles eventos de hibridación	Desarrollar un sistema de análisis por PCR para híbridos	31/12/02

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS

2.1	Sistema de detección de híbridos por marcadores moleculares	Una metodología de detección específica híbridos utilizando marcadores moleculares para *Brassica*, maíz y papa	Establecer un sistema de análisis por marcadores moleculares para formación de híbridos		31/12/02
2.1	Determinación del potencial de hibridación entre cultivos GM de *Brassica*, maíz y papa con relativos silvestres	Tasas de hibridación forzada para cultivos GM de *Brassica*, maíz y papa con relativos silvestres en invernadreo	Determinar el grado de introgresión de los transgenes de los cultivos GM de *Brassica*, Maíz y Papa en el país	1. Realizar experimentos de polinización recíproca	31/01/03
				2. Generar semillas híbridas	30/04/03
				3. Analizar molecularmente híbridos forzados	04/11/05
2.1	Determinación del impacto sobre relativos silvestres de cultivos GM de *Brassica*	Identificación de eventos de hibridación entre cultivos GM de *Brassica* con relativos silvestres en campo	Determinar el grado de introgresión de los transgenes de los cultivos GM de *Brassica*	1. Definir sitios para estudios en *Brassica*	01/10/02 30/09/03 28/09/04
				2. Colectar semillas	30/01/03 29/01/04 03/02/05
				3. Analizar preliminarmente semillas	04/06/03 02/06/04 01/06/05

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS

				4. Análizar molecular-mente semillas	03/10/03 01/10/04 07/11/05
2.1	Determinación del impacto sobre relativos silvestres de cultivos GM de maíz	Identificación de eventos de hibridación entre cultivos GM de maíz con relativos silvestres en campo	Determinar el grado de introgresión de los transgenes de los cultivos GM de maíz	1. Definir sitios para estudios en maíz	30/01/02 05/02/03 04/02/04 02/02/05
				2. Colectar semillas	03/05/02 28/04/03 26/04/04 02/05/05
				3. Analizar preliminar-mente semillas	04/10/02 06/10/03 04/10/04 03/10/05
				4. Analizar molecular - mente semillas	02/01/03 05/01/04 06/01/05 04/11/05
3.1	Publicaciones periódicas, talleres y seminarios informativos	Seminarios de opinión y discusión, asistencia a actividades divulgativas	Interiorizar a la comunidad sobre el verdadero efecto de los cultivos GM en el medioam-biente	Desarrollar: jornada 1 jornada 2 jornada 3 jornada 4 jornada 5 jornada 6 jornada 7 jornada 8	 03/06/02 11/11/02 02/06/03 10/11/03 07/06/04 08/11/04 06/06/05 14/11/05

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

11.2. Resultados esperados por actividad

Obj. Esp. Nº	Activid. Nº	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
					Meta	Plazo
1.1	2	Protocolos para muestreo de granos y/o semillas tipo OGM	Un protocolo para el procesa-miento y análisis de muestras para detección de OGMs en semillas	Desarrollar un sistema de detección por PCR de granos y/o semillas tipo OGM	Implemen-tar sistemas de muestreo represen-tativo en análisis de rutina	01/02/02
1.1	2	Metodologías optimizadas para la extracción de DNA de granos y/o semillas tipo OGMs	Prepara-ciones de DNAs purifica-dos desde distintas muestras de granos y/o semillas tipo OGM	Desarrollar un sistema de detección por PCR de granos y/o semillas tipo OGM		01/03/02
1.1	2	Sistema funcional de detección de transgenia por PCR de granos y/o semillas tipo OGMs	Análisis por PCR de distintas muestras de granos y/o semillas tipo OGM	Desarrollar un sistema de detección por PCR de granos y/o semillas tipo OGM		21/06/02
1.1 y 1.2	2	Sistema funcional de análisis de rutina de granos y/o semillas tipo OGMs	Sistema de detección por PCR de granos y/o semillas tipo OGM	Desarrollar un sistema de detección por PCR de granos y/o semillas tipo OGM	Desarro-llar un sistema estanda-rizado de análisis de granos y semillas	31/05/02
1.2	3	Puesta en marcha de	Análisis	Implement		desde

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

		análisis de rutina en SAG	de rutina para semillas y/o granos tipo OGMs	ar un sistema de detección por PCR de granos y/o semillas tipo OGM en laboratorio de SAG		28/06/02
2.1	4	Sistema funcional para la selección preliminar de híbridos	Selección de híbridos mediante selección preliminar en herbicidas	Establecer un primer sistema de escrutinio masivo de posibles eventos de hibridación		21/01/03
2.1	4	Protocolos optimizados de extracción de DNA para *Brassica*, maíz y papa	DNAs de cultivos GM de buena calidad	Establecer un sistema de PCR y marcadores moleculares para escrutinio rápido de posibles eventos de hibridación		30/07/02
2.1	4	Protocolos optimizados de extracción de DNA para especies relativas	DNAs de cultivos relativos de buena calidad	Establecer un sistema de PCR y marcadores moleculares para escrutinio rápido de posibles eventos de hibridación		30/12/02
2.1	4	Sistema funcional de análisis por PCR para híbridos	Análisis de transgenes en	Establecer un sistema de PCR para	Desarrollar un sistema de detec-	31/12/02

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

			cultivos GM utilizando PCR	escrutinio rápido de posibles eventos de hibridación	ción de híbridos por PCR	
2.1	4	Sistema funcional de análisis por marcadores moleculares para híbridos	Análisis de híbridos utilizando marcado-res	Establecer un sistema de marcado-res molecula-res para escrutinio rápido de posibles eventos de hibridación	Desarro-llar un sistema de detección de hínridos por marca-dores	31/12/02
2.1	5	Establecimiento de grados de formación de híbridos de *Brassica* en campo	Aplicació n del análisis de híbridos	Determinar el grado de introgre-sión de los transgenes de los cultivos GM de *Brassica*	1. Definir sitios para estudios en *Brassica*	01/10/02 30/09/03 28/09/04
					2. Colectar semillas	30/01/03 29/01/04 03/02/05
					3. Analizar preliminar -mente semillas	04/06/03 02/06/04 01/06/05
					4. Análizar molecular -mente semillas	03/10/03 01/10/04 07/11/05
2.1	5	Establecimiento de grados de formación de híbridos de maíz en campo	Aplica-ción del análisis de híbridos	Determinar el grado de introgre-sión de los transgenes de los cultivos GM de	1. Definir sitios para estudios en maíz	30/01/02 05/02/03 04/02/04 02/02/05

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
FIA
MINISTERIO DE AGRICULTURA

				maíz	2. Colectar semillas	03/05/02 28/04/03 26/04/04 02/05/05
					3. Analizar preliminar-mente semillas	04/10/02 06/10/03 04/10/04 03/10/05
					4. Analizar molecular-mente semillas	02/01/03 05/01/04 06/01/05 04/11/05
2.1	6	Establecimiento de grados de hibridación forzada en invernadero para *Brassica*, maíz y papa	Aplicación del análisis de híbridos	Determinar el grado de introgresión de los transgenes de los cultivos GM de *Brassica*, maíz y papa en el país	1. Experimentos de polinización recíproca	31/01/03
					2. Generación de semillas híbridas	30/04/03
					3. Análisis molecular de híbridos forzados	04/11/05
3.1	7	Regeneración de opinión y discusión respecto del tema OGMs	Seminarios de opinión y discusión, asistencia a actividades divulgativas	Interiorizar a la comunidad sobre el verdadero efecto de los cultivos GM en el medioambiente	Desarrollar: jornada 1 jornada 2 jornada 3 jornada 4 jornada 5 jornada 6 jornada 7 jornada 8	03/06/02 11/11/02 02/06/03 10/11/03 07/06/04 08/11/04 06/06/05 14/11/05

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

12. IMPACTO DEL PROYECTO

12.1. Económico

El impacto del proyecto desde el punto de vista económico es más bien indirecto y está relacionado con el establecimiento de un centro técnico que garantice, a través de estudios exhaustivos, que el uso de especies GM en el sector silvoagropecuario es inofensivo para el ser humano y el ecosistema.

Los potenciales beneficios económicos que aporta el uso de esta tecnología son difíciles de reflejar en cifras y no siempre las cifras son indicadoras de los mismos como se puede constatar en el punto 16.0, especialmente porque los efectos ambientales positivos del uso de ciertos OGMs aún no han sido cuantificados lo que impide su incorporación en este tipo de estudios. A modo de ejemplo, la Environmental Protection Agency (EPA) de E.U.A. determinó que el uso de plantas transgénicas de papa que producen la endotoxina δ del *Bacillus thuringiensis* ssp *tenebrionis* para controlar el escarabajo *Leptinotarsa decemlineata* -una de las plagas más dañinas de los cultivos norteamericanos y que hace que este cultivo ocupe el segundo lugar en el 'ranking' de mayor número de aplicaciones de insecticidas por temporada- ofrece los siguientes beneficios: i) Los pesticidas vegetales del *B. thuringiensis* reducen el uso de pesticidas químicos convencionales en la producción de papas, eliminando el uso de insecticidas químicos foliares porque los pesticidas vegetales de *B. thuringiensis* proporcionan un control que dura toda la estación. Pero además se evita otros factores que afectan directamente al ser humano como la liberación o exposición accidentales durante el embarque, almacenamiento, proceso de mezclado y carga, aplicación y desecho de los contenedores de productos químicos. Además se contribuye a reducir la concentración de pesticidas químicos en las aguas subterráneas de las regiones donde se cultiva papa, ii) Los pesticidas vegetales de *B. thuringiensis* son más eficaces para el control del escarabajo que las alternativas químicas y no químicas actualmente registradas, permitiendo así ampliar los programas de manejos integrado de plagas mediante el aumento del control biológico, iii) El Animal & Plant Health Inspection Service (APHIS) determinó que sus endotoxinas no son tóxicas para los organismos no objetivos, y iv) Se da una reducción potencial por igual de los costos de insumos para las unidades de producción grandes y pequeñas.

En síntesis, la EPA encontró que la producción de papas que contienen la endotoxina *Bt* cuentan con el potencial de ofrecer un cultivo comercial de papas que requiere menos kilos de aplicación de pesticidas químicos, lo que reduce los costos de inversión del agricultor (factor cuantificado) y el riesgo para los humanos y el ambiente (factor no cuantificado).

12.2. Social

a) Impacto en el ámbito productivo.

La información generada por el proyecto permitirá generar políticas claras para la adopción (o rechazo) de la incorporación de la tecnología de los cultivos GM para determinados eventos o para los eventos futuros, esto por parte de los productores nacionales.

b) Percepción pública.

El tema de este trabajo es uno muy vinculado a la percepción pública y prácticamente nace a petición de ella.

La actual evaluación y análisis de los llamados alimentos transgénicos es hoy una de las más exhaustivas aplicadas a alimentos y cultivos. Esto se debió en casi un cien por ciento a todo un movimiento social de crítica e inquietud, frente a este tipo de elementos, la mayor parte de las veces (o en su totalidad), sin argumentos técnicos válidos y con una organización *ex profeso* al tema de moratoria temporal o definitiva para los OGMs.

Se espera que el presente proyecto contribuya en una buena medida a generar información técnica necesaria para que se pueda utilizar, adecuadamente, por todos los componentes de la sociedad, en especial por el ente regulador.

12.3. Otros (legal, gestión, administración, organizacionales, etc.)

Existen dos grandes ramas que explican el impacto del presente proyecto en el ámbito económico: a) impacto sobre decisiones regulatorias ya tomadas y b) impacto sobre futuras decisiones.

a) El impacto sobre decisiones productivas ya determinadas por el ente regulador corresponde a la confirmación o no, de las decisiones ya asumidas como país para la producción desregulada de cultivos GM como maíz. Si bien es cierto que se espera confirmar las decisiones ya tomadas con respecto a este cultivo, se hace imprescindible generar antecedentes para el apoyo de estas decisiones.

En este sentido, la instauración de un sistema eficiente de trazabilidad molecular para las importaciones de material OGM, permitirá al organismo regulador manejar de una forma apropiada la información de movimiento de material intra e internacional de este tipo, permitiendo el manejo con identidad preservada de muchas de estos productos que son "commodities" para alimentos comercializados tanto en Chile como fuera del país.

b) El impacto sobre futuras decisiones en cuanto a la importación y producción regulada (o no) de determinados cultivos GM será uno de los productos más importantes del presente trabajo. Se espera contribuir de manera significativa a la incorporación activa de Chile en el conjunto de tratados internacionales, donde uno de los requisitos-país es precisamente disponer de la capacidad técnica nacional para evaluación independiente. Además, los resultados de este proyecto permitirán asumir con mayor certeza que la actual, las decisiones productivas de ciertos cultivos de importancia económica.

Alianza estratégica INIA-SAG.

Se ha generado una estrategia institucional de cooperación entre el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) y el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). Bajo este esquema de trabajo, se ha asumido que se aprovecharán la infraestructura y capacidades técnicas ya instaladas en INIA para capacitar e implementar un sistema de trazabilidad molecular de material tipo GMOs en el SAG, el que adquiere así una capacidad propia y necesaria para la aplicación adecuada de un marco regulatorio al respecto. Al mismo tiempo, la

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

información generada pasará a ser de primera utilidad para evaluar decisiones regulatorias ya tomadas y por tomar.

Como contraparte, este estudio se hace representativo al disponer de los antecedentes oficiales pertinentes para realizarlo, gracias al aporte y facilidades del SAG en este sentido.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

13. EFECTOS AMBIENTALES

13.1. Descripción (tipo de efecto y grado)

Se estima que el presente proyecto no tendrá un efecto ambiental *per se* durante su ejecución.

El impacto ambiental directo de trabajar con transgénicos está relacionado con el posible escape del transgén hacia relativos silvestres nativos e introducidos vía flujo polen y, el posible comportamiento de transgénico como maleza a través de su persistencia y distribución hacia los ambientes naturales, con su posible efecto en la diversidad biológica.

Estos dos problemas han sido evitados en la presente propuesta, tomando todas las medidas de seguridad. Primero, se ha toma la decisión de no hacer evaluaciones en campo a través de diseños experimentales controlados. Sólo se monitoreará la posible ocurrencia de escapes en cultivos transgénicos ya establecidos en campo de agricultores. Segundo, restringiendo las evaluaciones de hibridación e introgesión del transgén en condiciones altamente controladas en invernadero especialmente acondicionados para evitar el riesgo de escape.

Asimismo, se tomarán todas las medidas para trabajar en el laboratorio. El manejo de reactivos y sus desechos serán realizados siguiendo todas las normas internaciones establecidas al respecto.

Por lo descrito anteriormente, se estima que los riesgos ambientales o son prácticamente nulos en este proyecto.

Es precisamente, un ámbito de especial relevancia para el presente trabajo, determinar el grado de injerencia que ha tenido la siembra de algunos eventos de cultivos GM sobre nuestros ecosistemas locales, medido esto como grado de híbridos entre estos y relativos silvestres en campos y zonas aledañas a estos, donde se cultivan OGMs.

En adición, mediante los estudios de hibridación forzada, se espera recoger antecedentes que permitirían inferir una probable interacción en terreno, tanto de los actuales cultivos GM como de futuros eventos. De este modo, se contará con bases técnicas para la correcta toma de decisiones regulatorias.

13.2. Acciones propuestas

El proyecto es en sí una propuesta para medir los posibles efectos ambientales que el uso de OGMs pudiese tener sobre el ecosistema. Cualquier riesgo observado será motivo para el reestudio de las normas actualmente utilizadas en el uso y producción de trasngénicos a nivel comercial.

13.3. Sistemas de seguimiento (efecto e indicadores)

La prospección de la especies silvestres relacionadas que circundan los campos donde se cultivan los transgénicos y el monitoreo de las posibles fugas de genes hacia estas especies silvestres serán el principal sistema de seguimiento *in situ*. Estas actividades se realizarán periódicamente durante los cuatro años de duración del proyecto.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

15.2. Aportes de contraparte: criterios y métodos de valoración

Detallar los criterios utilizados y la justificación para el presupuesto por item y por año, indicando los valores unitarios utilizados y el número de unidades por concepto.

(para cada uno de los ítems de gasto se deberán especificar los criterios y metodología de valoración utilizada)

Ïtem	Justificación
Recursos humanos	Para la ejecución de un proyecto de esta envergadura se requerirá participación de un profesionales biólogos/agrónomos en tiempo completo y un técnico en jornada parcial. Las tareas implicadas para el primero se relacionan con la necesidad de disponer de gente con capacidad para realizar estudios en invernadero y campo desde el punto de vista taxonómico de la reproducción vegetal. El segundo realizará implementaciones técnicas de cierta complejidad en un inicio (hibridaciones) y posteriormente cuidado de plantas durante la ejecución.
Inversión	Se ha considerado una inversión mínima en equipos para el funcionamiento de este proyecto. Debiéndose descartar equipos sumamente necesarios como un PCR de placas. Estos, por el momento, serán aportados por INIA - La Platina, sin embargo, la transferencia de un sistema de trazabilidad molecular para OGMs dependerá en gran medida de la disposición de este y otro equipamiento adicional. La implementación de un invernadero de bioseguridad se ha estimado en su mínimo de aportes, debiendo quedar en claro que un sistema nacional de "risk assessment" debe comprometerse en la habilitación de facilidades adecuadas para la envergadura del trabajo, requerimiento obligado para el país como suscriptor del Protocolo de Cartagena.
Operación	La operación indicada en el presente proyecto corresponde esencialmente a gastos en reactivos para biología molecular y PCR, que por esencia son extremadamente caros en Chile. Se ha pensado en una puesta de análisis de rutina en SAG, lo que aumenta estos gastos operativos. Se han considerado ítems de arriendo de camioneta para salidas a terreno y así realizar las prospecciones necesarias, en conjunto con el SAG.
Difusión	Es evidente que este ámbito necesita de generar un sistema informativo, educativo y de difusión a la sociedad. Se ha asumido un compromiso de generar dos actividades de difusión por año destinadas a divulgar correctamente la tecnología de la transformación genética y al análisis de la percepción pública. Este grupo de investigadores tiene ya bastante experiencia al respecto, realizando frecuentemente charlas de este tipo que han ido desde foros universitarios hasta jornadas en colegios de enseñanza media. Como una forma de adecuar los gastos a las bases del Fondo, se estima que la organización y medio utilizados para estas reuniones serán de cargo del INIA - La Platina y aporte personal de los investigadores involucrados.
Administración	Se han incluido gastos mínimos de contabilidad.

UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

15.4. Financiamiento solicitado a FIA: criterios y métodos de valoración

Detallar los criterios utilizados y la justificación para el presupuesto por ítem y por año, indicando los valores unitarios utilizados y el número de unidades por concepto.

(para cada uno de los ítems de gasto se deberán especificar los criterios y metodología de valoración utilizada)

a) Recursos Humanos:

- Incentivos de personal INIA: Se ha establecido el valor/hora de trabajo de este personal y ponderado por la dedicación al proyecto. Los sobresueldos para el Coordinador y el Coordinador alterno no han sido explotados a plenitud en beneficio de gastos en otros ítems del proyecto.
- Honorarios de personal contratado: Evidentemente el trabajo proyectado necesita personal con mayor dedicación que la planificada para persona INIA o de entidades vinculadas (University of Reading y SAG). Se han utilizado valores para grado 10 en INIA, correspondiente a profesionales universitarios sin post-grado y ponderado por en tiempo de dedicación mensual al proyecto para fijar estos honorarios.

b) Inversión:

- Se han incluido costos de inversión **mínimos** para la correcta ejecución del proyecto. Esto considerando las óptimas facilidades del Laboratorio de Biotecnología de INIA - La Platina y la implementación básica que posee el Laboratorio de Virología Agrícola de SAG- Lo Aguirre. Diversas etapas del proyecto se desarrollarán en SAG-Lo Aguirre, en donde se dispone de un equipo de PCR de placas, que será reforzado con los equipos de centrífuga de placas y molinillo analítico adquiridos en este proyecto.

c) Operación:

- Se ha diseñado una tabla de gastos anuales en reactivos para los análisis que se efectuarán, considerando el proyecto como uno en el cual se montará un sistema de análisis semi-masivo de semillas y/o granos importados al país, a desarrollarse en SAG-Lo Aguirre.
- Se establecieron estimativos del número de actividades de prospección y análisis de los híbridos de campo y de invernadero para obtener finalmente una apreciación del gasto por año.
- Se valoró la utilización del uso de dos laboratorios básicos: INIA - La Platina y SAG-Lo Aguirre. El primero implementado adecuadamente para la puesta en marcha del proyecto. El segundo será utilizado desde el octavo mes de actividades. También se ha valorado la utilización, en forma parcial al total del proyecto, de enzimas propias del laboratorio de Biotecnología.

c) Administración:

- Se han incluido estimativos de costos mínimos de administración de contabilidad para el presente proyecto. Se ha considerado el empleo de personal INIA - La Platina.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
FIA
MINISTERIO DE AGRICULTURA

16. ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROYECTO

16.1. Criterios y supuestos utilizados en el análisis

Indicar criterios y supuestos utilizados en el cálculo de ingresos (entradas) y costos (salidas) del proyecto

La evaluación económica de la propuesta es de tipo indirecta y se relaciona con los beneficios que acarrearía la creación de un centro tecnológico idóneo respecto de la evaluación de riesgos del uso de OGMs, permitiendo así su desregulación y por tanto libre uso en reemplazo de las especies convencionales.

La evaluación económica se realizó en los tres cultivos modelos seleccionados para realizar los estudios de bioseguridad propuestos (maíz, papa y raps), y que han sido elegidos por estar siendo actualmente cultivados en nuestro país, por ser especies en las cuales se está haciendo transgenia a nivel nacional y/o por contar con parientes silvestres relacionados con los cuales pudiese existir un intercambio genético no deseado. Además se incluye la evaluación de una cuarta especie, tomate, especie hortícola de mayor importancia en Chile y en la cual el futuro uso de tomates GMs con resistencia a insectos lepidópteros tiene una implicancia económica muy significativa evaluando los benéficos que significan la sólo reducción de insecticidas químicos y sus implicancias en los costos operacionales y el rendimiento.

El proyecto se justifica asumiendo que:

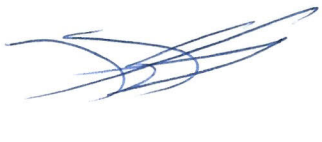
1. No existirán impedimentos legales futuros para el uso de transgénicos en la agricultura nacional.
2. No existirán riesgos ambientales o ecológicos al cultivar las especies transgénicas evaluadas en este proyecto.
3. Los productos transgénicos serán, paulatinamente, aceptados y demandados por la comunidad nacional e internacional
4. La sustitución de semilla tradicional por semilla transgénica será también en forma gradual ajustándose a la apertura de los mercados hacia los productos transgénicos. Se asume que año a año un 5% de la superficie nacional será sustituida por transgénicos por lo tanto al año 15, el 75% de la superficie de cada cultivo estará utilizando esta tecnología (Tabla 1).
5. El costo de la semilla transgénica es igual al de la semilla que no ha sido modificada
6. La superficie nacional, los precios de los insumos, mano de obra, servicios y venta del producto final de los cuatro rubros en cuestión no sufrirán cambios por factores externos durante los 15 años de evaluación, por lo tanto son fijos.
7. En todos los casos, los costos disminuyen por eliminación del uso de fungicidas, herbicidas y/o insecticidas y eliminación del uso de mano de obra y maquinaria en las labores que se emplean en estas actividades.
8. En papa transgénica con resistencia a *Erwinia carotovora*, se estima un aumento en los rendimientos de un 25%, según lo determinado en estudios realizados en el INIA. Un aumento en los rendimientos similar se estima en las otras especies a las que se les ha incorporado resistencia a otros patógenos. Aquellas especies a las que se les ha

incorporado resistencia a herbicidas los rendimientos aumentan un 10% al disminuir la competencia por luz y fertilizantes.

9. En la situación con proyecto se considera como salida el costo del proyecto aunque la tecnología evaluada no es desarrollada por el mismo sino más bien el proyecto es un mecanismo que avalaría su utilización.

Tabla 1: Superficie nacional de los cultivos anuales y la hortaliza seleccionados y estimación de la evolución de superficie que será reemplazada con transgénicos

ESPECIE/ TEMPORADA	SUPERFICIE ACTUAL	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7	Año 8	Año 9	Año 10
Papa (1999-00)	61.360	3068	6136	9204	12272	15340	18408	21476	24544	27612	30680
Raps (1999-00)	22.800	1140	2280	3420	4560	5700	6840	7980	9120	10260	11400
Maíz (1999-00)	86890	4345	8689	13034	17378	21723	26067	30412	34756	39101	43445
Tomate (1998-99)	20.391	1020	2039	3059	4078	5098	6117	7137	8156	9176	10196



17. RIESGOS POTENCIALES Y FACTORES DE RIESGO DEL PROYECTO

17.1. Técnicos

La puesta en marcha de un sistema de rutina para la trazabilidad molecular de granos y/o semillas tipo OGM y su funcionamiento en un Laboratorio Regulador, dependerán en gran medida de que se puedan asignar, en el corto plazo, recursos para el equipamiento mínimo para el análisis semi-masivo de muestras de embarques ingresados al país.

Desde un punto de vista científico, un factor de riesgo es que no se encuentren resultados positivos para la introgresión de transgenes hacia cultivos relativos silvestre y/o malezas, dadas las medidas de bioseguridad que el SAG-CALT exigen. Esto puede ser estimado bajo dos perspectiva, puesto que si bien es cierto que no se lograra establecer grados de hibridación o tasas de introgresión, efectivamente será un resultado positivo desde el punto de vista de las políticas aplicadas hasta el momento, ratificando la normativa actual.

17.2. Económicos

En contraposición a lo expuesto en el **ítem 17.1**, la posibilidad de encontrar realmente tasas de introgresión y eventos de hibridación entre cultivos GM y los relativos estudiados, implicaría la revisión de las medidas de bioseguridad actualmente vigentes, haciendo necesaria la evaluación de nuevas estrategias de cultivo de especies GM que garantice su uso seguro. Más que una pérdida de aquellos productores que ya han incorporado la tecnología, un resultado de esta naturaleza obliga a la búsqueda de nuevos mecanismos que control o readecuación de los ya existente que permitan un cultivo seguro.

Esto no debe ser visto, sin embargo, como un riesgo del proyecto en sí, sino un resultado, tal vez menos esperado o deseado, tras la ejecución del mismo.

17.3. Gestión

El Instituto de Investigaciones Agropecuarias es el principal centro de investigación agrícola de país y cuenta con profesionales especialistas y técnicos en las diversas las disciplinas que requiere el desarrollo de esta propuesta. Los Centros de Regionales de Investigació La Platina y Remehue cuentan con infraestructura de laboratorios e invernaderos adecuada para el desarrollo de los distintos trabajos y análisis que requiere el proyecto. En cada estación existe suficiente superficie que permita realizar trabajos de campo dirigidos cumpliendo con las barreras de aislamiento que este tipo de estudios requiere. Para el mantenimiento de los cultivos en terreno se cuenta con toda la maquinaria e implementos agrícolas que se requieren.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

17.4. Otros

En relación con la capacidad de gestión administrativa contable el INIA cuenta con un sistema administrativo contable probado a través de largos años en la ejecución de proyectos de variable índole y envergadura. El sistema contable y operativo del Centro Regional de Investigaciones La Platina, desde donde se gestionará el proyecto, cuenta con un sistema de contabilidad que asegura la autonomía y eficiencia de control y evaluación del proyecto disminuyendo cualquier riesgo en el desarrollo del mismo.

17.5. Nivel de Riesgo y Acciones Correctivas

Riesgo Identificado	Nivel Esperado	Acciones Propuestas
Dificultad en la obtención de semillas de especies transgénicas a evaluar	Bajo	La participación del SAG minimiza este riesgo avalando la obligatoriedad de los estudios.
Intercambio de genes entre las especies cultivadas seleccionadas y sus relativos silvestres	Bajo	Todo el trabajo de cruzamiento dirigido será realizado en los CRIs del INIA bajo condiciones de alta seguridad
Monitoreo *in situ* de producciones comerciales de las especies en estudio	Bajo	Actualmente ya se ha identificado empresas dispuestas a colaborar con el proyecto por considerarlo indispensable.

18. ESTRATEGIA DE TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

Uno de los aspectos relevantes del proyecto es la transferencia de los resultados, los que se pueden dividir en dos niveles: a) transferencia de capacidades y b) generación de datos para utilización en el marco regulatorio.

a) Transferencia de capacidades.

Se refiere específicamente a la generación (en un nivel temprano de la ejecución del proyecto) de una capacidad técnica para el análisis molecular (trazabilidad) a gran escala de semillas y/o granos tipo GMO que entran al país, por parte del Laboratorio *ad hoc* del SAG. Esto incluirá la capacitación del personal involucrado en las tareas de rutina para estos análisis, en el Laboratorio de Biotecnología INIA - La Platina, para después dejar toda la capacidad instalada en SAG.

b) Generación de datos.

En instancias temporales de mediano y largo plazo, se espera obtener datos cuali y cuantitativos de las tasas reales de hibridación, introgresión y flujo de transgenes debido a la incorporación de cultivos GM en ecosistemas nacionales. Estos datos generados serán puestos a disposición de los organismos reguladores para que estos dispongan medidas pertinentes. En una segunda instancia, se espera generar publicaciones científicas internacionales en revistas con comité editor internacional.

c) Información a la comunidad.

La percepción que la comunidad tiene sobre los OGMs es un tema que, *per se*, justifica el desarrollo de este proyecto. Es un deber de los científicos que trabajan en el tema mantener al público general informado sobre los avances en la materia enfatizando las ventajas y desventajas de cada sistema evaluado, con el propósito de aportar elementos que permitan la formación de opiniones fundadas, para lo cual se pretende lograr a través del desarrollo periódico de artículos para ser publicados en medios masivos como diarios y revistas nacionales y, el desarrollo de charlas informativas y seminarios dirigida a todo el público. Respecto del último punto, algunos integrantes del equipo técnico han participado en experiencias similares, como el proyecto Simbiosis con excelentes resultados.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

19. CAPACIDAD DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO

19.1. Antecedentes y experiencia del agente postulante y agentes asociados

(Adjuntar en Anexo B el Perfil Institucional y documentación que indique la naturaleza jurídica del agente postulante)

El Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) es una Institución dependiente del Ministerio de Agricultura cuya misión es crear, captar, adaptar y transferir conocimientos científicos y tecnológicos, como un agente de innovación en el ámbito productivo silvoagropecuario. Desde su creación en 1964, el INIA ha actuado como agente generador de un importante porcentaje del conocimiento científico-técnico de la agricultura chilena, en los más diversos ámbitos. Su capacidad para la ejecución de este proyecto esta avalado por su historia y perfil como Institución del Agro chileno descritos en el Anexo B.

El INIA tiene una amplia experiencia en el manejo de proyectos de investigación y desarrollo en general, y en el área de Biotecnología Agropecuaria en particular. En estos proyectos han participado directamente, en calidad de investigadores responsables o co-investigadores, prácticamente todos los investigadores que participan en este proyecto. A modo de ejemplo, se listan algunos de los proyectos más directamente relacionados al área de desarrollo y uso de conservación de germoplasma, transformación genética y marcadores moleculares:

Conservación de Recursos Genéticos:

- 2001. Plant exploration in the northern Chile to collect wild tomato species, with emphasis on *Solanum lycopersicoides* and *S. Sitiens*. Investigador Responsable: Dr. Roger Chetelat, C.M.Rick Tomato Genetic Resource Center (TGRC) UC-Davis, USA. Investigadores participantes: Ricardo Pertuzé y Luis Faundez, Fac. Agronomía, Universidad de Chile; Eliane Graham, TGRC, UC-Davis; Pedro León Lobos, CRI-La Platina, INIA. Financiado por USDA.

- 2001-2005 Conservación *Ex Situ* de plantas endémicas, vulnerables y en peligro de extinción de las zonas áridas de Chile. Investigadores principales: Pedro León Lobos, CRI- La Platina, Chile; Hugh Pritchard and Michael Way, Millennium Seed Bank Project (MSBP), Royal Botanics Garden Kew, United Kingdom. Financiamiento inicial: MSBP.

- 2001-2004. Diseño de una estrategia de control integrado orientada a incrementar la calidad fitosanitaria del cultivo de la papa en la región sur de Chile.

- 2001-2004. Obtaining potatoes less dependent on insecticides through a type of broad spectrum resistance mediated by glandular trichomes and leptines.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

Marcadores moleculares:

- 1997-1998: FONDECYT: "Utilización de técnicas de fingerprinting para la determinación de idoneidad varietal en vides".

- 1997-1998: FONDECYT Post-Doctorado G.A. Muñoz: "Diferencias genéticas en poblaciones del hongo fitopatógeno Botrytis cinerea e identificación de marcadores asociados a resistencia a dicarboximidas".

- 1998-2001: FDI: "Sistema de manejo integrado de producción de uva vinífera para la denominación de origen del vino elaborado en el valle de Casablanca".

- 1999-2001: FONDECYT: "Desarrollo de un mapa de ligamiento genético e identificación de marcadores moleculares para caracteres de interés en Vitis vinifera L."

- 2000-2002: FONDECYT Tesis de Doctorado V. Obreque: "Mapa sinténico de alpaca basado en microsatélites".

- 2001-2003: FONSAG: "Identificación de Pseudococcidae (chanchitos blancos) presentes en Chile y en vegetales de exportación: estudios morfológicos y moleculares".

- 2001-2004: FONDEF: "Diferenciación de los vinos tintos chilenos en el mercado mundial mediante la determinación de marcadores moleculares característicos en cuanto a cepa y origen".

- 2001-2004: INCO-DEV (Comunidad Europea): "Marker-Assisted Selection for Table Grapes".

Transformación genética:

-1994-1997: FONDECYT: "Caracterización molecular de aislamientos chilenos del virus del mosaico de la sandía tipo II y transformación genética de melón mediante genes quiméricos".

-1999-2001: FONDECYT: "Caracterización molecular de aislamientos chilenos de PPV y transformación genética de *Prunus*".

- 2000-2001: FONDEF: "Transformación genética de vides para introducir resistencia a enfermedades fungosas"

Los resultados de casi todos estos trabajos han sido transferidos en distinto grado al sector productivo, lo que indica un adecuado efecto multiplicador y un positivo impacto, a la vez que abalan la capacidad de ejecución de proyectos de diferente envergadura y naturaleza, apoyados por un adecuado soporte administrativo-contable. Los Curricula adjuntos de los investigadores biotecnólogos muestran además un ritmo de publicaciones a nivel nacional e internacional que permiten augurar un buen desempeño en el trabajo planteado en esta ocasión.

FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

Por otra parte, esta línea de trabajo coincide plenamente con el plan estratégico del INIA, en cuanto a respaldar plenamente acciones de investigación biotecnológicas encaminadas a resolver temas de relevancia para el agro nacional. En este contexto, este trabajo constituye una primera etapa de un objetivo a más largo plazo y más general, orientado a la generación de un sistema nacional de bioseguridad vegetal.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

19.2. Instalaciones físicas, administrativas y contables

19.2.1. Facilidades de infraestructura y equipamiento importantes para la ejecución del proyecto.

Los laboratorios de Biotecnología de INIA La Platina y Remehue cuentan con una capacidad instalada de cerca de 600 y 250 m^2, respectivamente, con el equipamiento necesario para enfrentar un proyecto de esta naturaleza. Además, se cuenta invernaderos que pueden ser implementados para trabajos de bioseguridad; además en donde se puede manejar material vegetal en forma independiente del período del año; instalaciones cuarentenarias de alta seguridad; laboratorios de fitopatología y virología donde se cuenta con facilidades anexas a las propias del Lab. de Biotecnología. La biblioteca está bien dotada de revistas de disciplinas agronómicas (entre ellas varias de Biotecnología, Genética, Frutales, etc.). Se cuenta en general con buena infraestructura de computación, contando con una red de intranet y conección permanente a internet. Entre los equipamientos básicos se cuenta con distintos tipos de centrífuga (microfugas refrigeradas, centrífugas convencionales de 22.000 rpm, ultracentrífuga); sistemas de hibridación (en dot y para transferencia de genes); sistema de isoelectroenfoque; equipos de electroforesis horizontales y verticales (para proteínas y ács. nucleicos) de distintas dimensiones (entre otros, cámaras para geles de agarosa de 60 muestras y cámaras de tipo secuenciación); fuentes de poder de alto voltaje y estándar; termocicladores; incubadores orbitales; horno de hibridización y de secado de membranas; baños termorregulados; cuarto para manejo de radioisótopos; laboratorio fotográfico; secador centrífugo ("Speed-Vac"); disruptores de tejidos; agitadores rotatorios; sonicadores de baño y de vástago; liofilizadores; cámara fría, freezers y ultrafreezers; estufas de incubación; campanas de extracción y de bioseguridad; esterilizadores; sistema de generación de agua destilada; HPLC con detectores de UV/visible, arreglo de diodos y de fluorescencia; GCs; aparato de electroforesis capilar; espectrofotómetro; fluorímetro; densitómetro; microscopía óptica, de fluorescencia y electrónica de transmisión; pHímetros, balanzas y otro equipo menor; además de contar con una sección dedicada al cultivo de tejido, incluyendo cámaras de crecimiento de distintas dimensiones y temperatura, cámaras de flujo laminar, pistola de partículas para transformación genética de plantas, etc.

19.2.2. Capacidad Laboratorio Virología SAG-Lo Aguirre.

Este laboratorio (250 m^2) ya cuenta con implementación básica: un equipo de PCR para placas, cámpana de flujo laminar y pieza aislada para reacciones de PCR. A esta implementación se sumará la correspondiente a los equipos de centrífuga de placas ELISA y molinillo analítico, incluidos en el presente proyecto. En cuanto a equipamiento genérico, este laboratorio cuenta con baños incubadores, homogeneizadores de tejidos tipo vástago y ultraturrex, pipetas, micropipetas, sistema de agua destilada, equipamiento de electroforesis de DNA para 30 muestras, sistema fotográfico de registro de datos, fuentes de poder estándar, freezer, ultrafreezer, cámara fría, estufas de incubación, pHímetro, balanza, etc.

De esta forma, será este laboratorio el fijado como referente para los análisis de rutina en etapas intermedias y avanzadas de este proyecto. Al mismo tiempo, se cuenta con

instalaciones de invernadero cuarentenarias para el desarrollo en paralelo de experimentos relacionados a hibridación forzada y mantenimiento de híbridos GM naturales.

Es necesario enfatizar que este laboratorio realiza análisis rutinarios para la detección por ELISA y PCR (en menos cantidad) de virus cuarentenarios, por lo que la carga de trabajo y por ende la demanda de insumos que implica la puesta en marcha de este proyecto, será suplida en buena medida por los reactivos demandados para PCR en este proyecto (esencialmente nucleótidos trifosfato y Taq DNA polimerasa), considerando el establecimiento de un sistema masivo o semimasivo de detección de OGMs (96 muestras por día).

19.2.3. Capacidad de gestión administrativo-contable.

La Gerencia de Administración y Finanzas de la Institución, a través de su Departamento de Presupuestos y Contabilidad Central, autoriza y dispone la asignación de los recursos para la ejecución de la proyectos en los centros Regionales de Investigación. En el CRI La Platina, la SubGerencia de Administración lleva la contabilidad del proyecto en forma separada. Cada proyecto se considera un centro de costo al que se le asigna un código de presupuesto. Los gastos son autorizados por el jefe de proyecto.

El INIA se organiza a dos niveles; uno nacional y otros regional.

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA

20. OBSERVACIÓN SOBRE POSIBLES EVALUADORES

(Identificar a el o los especialistas que estime inconveniente que evalúen la propuesta. Justificar)

Nombre	Institución	Cargo	Observaciones
Patricio Arce	PUC	Profesor Titular	sin observación
Hernán Acevedo	UCH	Profesor Titular	sin observación

FUNDACION PARA LA INNOVACION AGRARIA
UNIDAD DE ESTUDIOS Y PROYECTOS
MINISTERIO DE AGRICULTURA