



INFORME DE EVALUACIÓN DEL RIESGO DE LA LIBERACIÓN EN CAMPO DE PLANTAS DE TABACO MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/23/43)

Antecedentes

El 18 de noviembre de 2024 se recibió desde la Autoridad competente de la Junta de Extremadura, la notificación **B/ES/24/43**, correspondiente a la liberación voluntaria de plantas de tabaco (cv Burley B5) derivadas de la línea NtB10 como biofactorías de la proteína edulcorante taumatina-2, de la Asociación Empresarial de Investigación Centro Tecnológico Nacional Agroalimentario Extremadura – CTAEX.

Este ensayo de liberación voluntaria al medio ambiente se enmarca en un proyecto de desarrollo de plantas de tabaco como biofactorías de la proteína edulcorante taumatina-2 para su uso en agricultura molecular y se realiza con el mismo tabaco (cv Burley B5) derivado de la línea NtB10 (notificaciones **B/ES/22/28** y **B/ES/23/34**).

La responsabilidad para el desarrollo de esta liberación está compartida por dos entidades, el CTAEX y el responsable de la actividad de I+D: Nambawan Spain SL.

Se presentó el informe de resultados de la liberación anteriormente realizada (B/ES/23/34) y las conclusiones señaladas por el notificador son: *“Tal y como se preveía en la evaluación de riesgos realizada antes de la liberación, las plantas modificadas genéticamente no han mostrado ningún efecto sobre el medio ambiente o sobre las personas que las diferencie del tabaco convencional. Hasta el momento, no se ha observado la germinación de ninguna planta de tabaco en el área adyacente al lugar de liberación (inspecciones semanales realizadas desde el inicio de la floración en el mes de septiembre). Estas inspecciones continuarán hasta diciembre de 2025.”*

Esta notificación se estudió en las reuniones 185ª y 186ª de la CNB, celebradas los días 10 de diciembre de 2024 y 28 de enero de 2025, respectivamente. Tras su estudio en estas reuniones se ha solicitado información adicional y alguna subsanación, y las contestaciones del notificador han quedado reflejadas en este informe.

Objetivo y características del OMG

Este ensayo de liberación se enmarca en un proyecto de desarrollo de plantas de tabaco como biofactorías de la proteína edulcorante taumatina-2 para su uso en agricultura molecular.

La taumatina está compuesta por varias proteínas extraídas de los arilos de la fruta del Katemfe (*Thaumatococcus danielli*), un arbusto nativo de África, y su uso como modificador y potenciador del sabor en la cocina tradicional de África occidental se remonta a hace más de cien años. Los principios activos modificadores del sabor residen en dos proteínas estrechamente relacionadas, taumatina I y taumatina II (taumatina-2). Desde mediados de la década de los 90 se comercializan, tanto en Japón como en los países occidentales, para su uso como modificador del sabor y edulcorante bajo en calorías. Como alternativa a su obtención industrial, estas proteínas pueden producirse de forma recombinante en una amplia gama de huéspedes, incluidos microorganismos como bacterias y levaduras, y plantas modificadas genéticamente (PMG).

En este contexto, la empresa Nomad Bioscience ha generado plantas de tabaco modificadas genéticamente que expresan de forma recombinante la proteína taumatina-2, siendo la proteína recombinante idéntica a la proteína nativa extraída de las plantas de Katemfe. Estudios previos, tanto en condiciones de crecimiento confinado en invernadero, como en condiciones de crecimiento en campo han demostrado la acumulación de taumatina-2 en las semillas de estas plantas.

Esta solitud de liberación tiene como finalidad la optimización y análisis tecno-económico del proceso de cultivo (*upstream*) y la generación de material de semilla para el desarrollo de procesos *downstream* de extracción y purificación de la proteína recombinante a escala piloto.

En cuanto a las fechas y duración previstas de la liberación, está previsto que empiece el 1 de abril de 2025 con el trasplante a campo de las plantas y se extienda hasta el 31 de diciembre de 2025.

Evaluación del riesgo

1) Modificación genética

Las plantas de tabaco objeto de esta liberación contienen en su genoma inserciones de T-DNA para la expresión en semilla de la proteína taumatina-2 y se han generado mediante transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* de plantas de *N. tabacum* cv Burley B5 con el plásmido pNMD52711. Este plásmido contiene casetes de expresión para (i) la expresión constitutiva del marcador de selección de resistencia a fosfinotricina en planta y (ii) la expresión de la proteína taumatina-2 bajo el control de un promotor específico de semilla. La transformación genética se describe detalladamente en la solicitud.

Se ha descrito adecuadamente el proceso de generación de las líneas de tabaco modificadas genéticamente (selección y propagación de una línea, NtB10, homocigota para una de varias copias de T-DNA insertadas).

La información sobre la modificación genética, vector, estabilidad, número de copias, métodos de identificación, etc., está ampliamente explicado en la notificación y es la misma información de las notificaciones anteriores B/ES/22/28 y B/ES/23/34. Así mismo, se confirmó la expresión funcional de los transgenes mediante el análisis de la producción de taumatina-2 en semilla y el contenido estimado de taumatina-2 en semillas T3 resultó ser de 3,6 g/kg de semilla.

La secuencia codificante de la taumatina-2 se encuentra bajo el control del promotor Pphas de *Phaseolus vulgaris*, un promotor específico de semilla, por lo que la proteína recombinante se acumula en las mismas. La expresión de la proteína recombinante en semillas de las plantas transgénicas se ha confirmado mediante Western Blot con un anticuerpo específico.

2) Información relativa a la planta modificada genéticamente

Las líneas de tabaco objeto de esta liberación derivan del cultivar de *N. tabacum* Burley B5 y contiene varias inserciones de un T-DNA que codifica la expresión específica en semilla de la proteína edulcorante taumatina-2. La taumatina, cuya fuente natural es la planta tropical *Thaumatococcus daniellii*, es un edulcorante calórico con un dulzor 100.000 veces superior al del azúcar en términos molares. Está formada por una única cadena aminoacídica de 207 aminoácidos con un peso molecular

de 22 kDa. Se han identificado 2 formas de taumatina, taumatina I y taumatina II (designada en esta solicitud como taumatina-2) siendo esta última la producida en las plantas objeto de estudio. La taumatina es segura para su uso como modificador del sabor o edulcorante, no es tóxica, genotóxica o teratotóxica, y aunque está asociada a potenciales efectos alergénicos, está aprobada como ingrediente alimentario, potenciador del sabor o edulcorante de alta intensidad en varios países, incluidos los países de la Unión Europea. La taumatina-2 se acumula en las semillas de las plantas transgénicas y puede extraerse a partir de ellas.

3) Probabilidad de mayor persistencia que el receptor o las plantas parentales en los hábitat agrícolas o más invasoras en los hábitats naturales

Actualmente no existe ninguna evidencia que sugiera que la producción de la proteína edulcorante taumatina-2 en semillas, afecte a la supervivencia de la planta y la convierta en más persistente que las plantas parentales en los hábitats agrícolas o más invasora en los hábitats naturales. Estudios previos en los que se expresó en plantas de tabaco el gen de la taumatina de *Thaumatococcus daniellii* bajo el control del promotor 35S resultaron en mayor resistencia de las plantas transgénicas frente a los hongos *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani* con un retraso en la aparición de los síntomas. Asimismo, las semillas de estas plantas presentaron un porcentaje más alto de germinación y supervivencia de las plántulas en condiciones de salinidad y estrés hídrico. En la línea objeto de esta liberación, la expresión del gen de la taumatina está regulado por el promotor pha que es inactivo en tejidos vegetativos, por lo tanto, no es esperable que estas plantas presenten mayor resistencia a estreses bióticos o abióticos durante las diferentes etapas su desarrollo. Dado que el tabaco no tiene capacidad de sobrevivir de forma silvestre en las condiciones bioclimáticas de la región (en las condiciones normales de cultivo en Extremadura se necesita aportar mediante riego de 4.000 a 6.000 m³ de agua/ha), y habida cuenta la ausencia de taumatina-2 en tejidos vegetativos, no se espera tampoco que las líneas MG puedan prosperar de forma asilvestrada.

En cualquier caso, la CNB recomienda que, como parte de esta nueva liberación voluntaria, se continúe vigilando esta eventualidad.

4) Modo, tasa de reproducción, diseminación y capacidad de supervivencia

En cuanto al modo y tasa de reproducción de las PMG, se ha comprobado que durante su crecimiento en invernadero no se ha observado ningún efecto del transgén en el modo y tasa de reproducción de la línea NtB10. No se han observado diferencias en el número de flores, semillas, o en la viabilidad de estas en comparación con plantas no transgénicas.

En relación con la diseminación, dada la naturaleza de la modificación genética introducida, no se prevé ningún efecto sobre la capacidad de diseminación de las plantas transgénicas. Sobre la capacidad de supervivencia, durante el crecimiento a pequeña escala en invernadero de las distintas generaciones de la línea transgénica, no se ha observado ningún efecto de T-DNA en el número de flores o semillas, así como tampoco en la eficiencia de germinación de las mismas. Sin embargo, los últimos datos obtenidos del crecimiento de estas plantas a media escala en condiciones confinadas reflejan una disminución en la producción de semillas de la línea MG de entre un 25 y un 35 %.

Las plantas son portadoras del gen *BAR* utilizado como marcador de selección en la transformación genética y que confiere tolerancia a la fosfinotricina. La presencia de este gen podría suponer una ventaja

en comparación con el tabaco no transgénico en presencia del herbicida. Se indica que en esta parcela de ensayo no se aplicarán tratamientos con fosfinotricina.

5) Presencia de especies vegetales compatibles sexualmente, tanto cultivadas como silvestres, que sean parientes

El tabaco es una especie subtropical originaria de Centroamérica y América del Sur que no tiene especies antecesoras en Europa, por lo que no existen especies compatibles silvestres que puedan cruzarse formando híbridos fértiles. Puede ser compatible con el tabaco comercial cultivado. La localización en la que se prevé realizar la producción del tabaco en la parcela indicada se encuentra a una distancia de 100 km de las zonas de producción de tabaco comercial.

En la región de Extremadura está presente la especie *Nicotiana glauca* Graham que, aunque en su hábitat natural es polinizada por colibríes, sin embargo, en las zonas de introducción donde no existen polinizadores naturales, como es el caso de España, la reproducción tiene lugar mediante autofecundación.

La CNB considera que se deben realizar inspecciones periódicas durante el período de floración de las plantas transgénicas para detectar la posible existencia de plantas de *N. glauca* en las proximidades de la liberación (zona perimetral a la parcela).

6) Potencial de transferencia de genes de las PMG a las mismas o a otras especies de plantas sexualmente compatibles en las condiciones de plantación y cualquier ventaja o desventaja selectiva adquirida

El tabaco es una especie autógama con porcentaje de autofecundación superior al 96%, pero se puede producir también la polinización cruzada a través de insectos, disminuyendo la probabilidad de polinización con la distancia. Con una separación de 45 metros entre variedades, cada variedad de tabaco se autofecundará casi al 100%. En esta liberación se mantendrá una distancia de 80 metros entre las plantas transgénicas y el borde del área de liberación. La probabilidad de que se produzca una polinización cruzada entre las plantas transgénicas y una planta de *N. glauca* que eventualmente pudiese crecer en las proximidades del área de liberación, se considera mínima. Además, algunos estudios previos muestran que los híbridos resultantes del cruce entre *N. glauca* y *N. tabacum* son estériles, o presentan muy baja fertilidad.

No existen especies vegetales sexualmente compatibles con la planta de tabaco próximas a localización prevista para la liberación de plantas modificadas genéticamente. Puede ser compatible con el tabaco comercial cultivado. La localización en la que se prevé realizar la producción de este tabaco se encuentra a una distancia de 100 km de las zonas de producción de tabaco comercial. Está prevista la realización de otra liberación de plantas de la misma línea de tabaco productora de taumatina-2 en la provincia de Badajoz (**B/ES/24/40**), a una distancia de aproximadamente 30 km. También está prevista la realización de otra liberación de plantas de tabaco editadas genéticamente (mediante CRISPR/Cas) en genes de la familia MPO para la producción de anatabina (**B/ES/24/41**) en la finca de CTAEX en Villafranco del Gadiana (Badajoz). La distancia entre ambas es de aproximadamente 40 km. Podrían crearse otros cultivos de especies sexualmente incompatibles a distancias inferiores a 100 m.

La CNB considera suficiente las distancias de aislamiento de esta liberación voluntaria con respecto a cualquier otro cultivo de tabaco o liberación experimental realizada con plantas de tabaco modificado genéticamente, pero se deberán extremar las medidas propuestas para evitar la posible dispersión de las semillas de estas plantas de tabaco modificadas genéticamente.

- 7) Posible impacto sobre el medio ambiente inmediato y/o diferido resultado de interacciones directas e indirectas entre las PSMG y los organismos ajenos a la investigación, incluido el impacto sobre los niveles de población de los competidores, herbívoros, simbioses (en su caso), parásitos y patógenos.

El notificador indica que la taumatina no es tóxica, genotóxica o teratogénica, no está asociada con efectos alérgicos u otros efectos nocivos, y su uso como aditivo alimentario está aprobado en Unión Europea y que no se conoce ninguna característica derivada de esta modificación que pueda producir ningún impacto sobre los niveles de población de competidores, herbívoros, simbioses, parásitos o patógenos.

La CNB considera que, aunque no se haya encontrado ningún estudio que sugiera que la taumatina pueda ser tóxica para los polinizadores u otros organismos no-diana, y que tampoco se haya encontrado ningún estudio donde se demuestre que la taumatina no tiene efecto sobre polinizadores u otros artrópodos beneficiosos, sin embargo, al realizarse esta liberación en una extensión de 50 ha, la cantidad de polen que se va a producir va a ser muy grande, por lo que los polinizadores del tabaco (himenópteros y lepidópteros), van a estar expuestos a la taumatina. Por ello, se debería revisar si hay estudios donde se demuestre la ausencia de toxicidad de la taumatina sobre los organismos beneficiosos presentes en cultivos de tabaco, y presentar el resultado de dicha revisión a la CNB en cuanto esté disponible.

- 8) Posibles efectos sobre la salud humana resultado de las potenciales interacciones entre las PMG y las personas que trabajan/están en contacto con ellas o cerca de la liberación de la PMG.

Por una parte, la manipulación de hojas de tabaco verde sin la protección adecuada puede provocar intoxicación por nicotina al ser esta absorbida por la piel (enfermedad del tabaco verde). Asimismo, la aplicación de productos fitosanitarios para el control de plagas durante el cultivo requiere el uso de equipo adecuado para la protección personal por parte de los trabajadores y por ello, durante la liberación se aplicarán las medidas de protección adecuadas.

Respecto a su potencial alergénico, por otra parte, el uso de taumatina como aditivo alimentario (E957) está aprobado en la Unión Europea desde 1984, en Estados Unidos (FEMA GRAS número 3732), y en el Reino Unido también fue aprobado en 1983 para su uso en alimentos y productos farmacéuticos.

Adicionalmente a las referencias arriba indicadas, la CNB estima que es necesario hacer referencia a los datos disponibles en la Agencia Europea de Químicos (ECHA) y la información evaluada por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en su informe final¹ en el que se concluye que no existe ningún problema de seguridad para la taumatina (E 957) siempre y cuando se ajuste

¹ “Re-evaluation of thaumatin (E 957) as food additive. © 2021 European Food Safety Authority. EFSA Journal published by John Wiley and Sons Ltd on behalf of European Food Safety Authority. (EFSA Journal 2021;19(11):6884, 72 pp, <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2021.6884>).

al escenario de evaluación de exposición al nivel máximo reglamentario, por lo que se mantiene la recomendación del uso de protección respiratoria para quién pueda estar en contacto con taumatococcus por vía inhalatoria, bien en el procesado, bien al hacer tareas en el periodo de floración, (como ya se indica en el informe de ERMA), así como el uso de guantes para su empleo en labores de cultivo realizadas durante el periodo de floración.

Características y duración de la liberación voluntaria

– Localización y extensión del lugar o lugares de liberación

El lugar de liberación está situado en el municipio de Mérida, provincia de Badajoz. Se han indicado las coordenadas geográficas de la parcela y presentado un plano de localización.

Se trasplantarán un máximo de 1.050.000 plantas transgénicas. Las plantas se distribuirán en un solo bloque pudiendo dejarse un pasillo central para poder realizar las labores de cultivo. El conjunto estará rodeado por dos filas de plantas de tabaco no transgénico. Las plantas se distribuirán según un marco de plantación de 1,20 metros entre filas y 0,3 metros entre plantas, resultando en una densidad de 21.000 plantas/ha. Las plantas transgénicas ocuparán por tanto una superficie de 50 hectáreas dentro del área de liberación, que ocupa un área total de aproximadamente 60 hectáreas.

El diseño de liberación propuesto incluye un margen de 25 metros sin plantas a partir de la trampa de polen de plantas no MG. Además, se establecerá una trampa de polen de plantas de tabaco no transgénico rodeando al conjunto de la liberación, con las filas necesarias (8 líneas) para mantener unos 10 metros que actúen de trampa.

– Proximidad de biotopos reconocidos oficialmente o zonas protegidas que puedan verse afectados

La zona de liberación se encuentra próxima a un tramo del río Guadiana, concretamente el tramo E2-19 Montijo, incluido en la Red Natura 2000. Forma parte de Confederación Hidrográfica del Guadiana, donde se incluyen 82 Zonas de Especial Conservación (ZEC), 4 Lugares de Importancia Comunitaria (LIC) y 55 Zonas de Especial Conservación para las Aves (ZEPA). El área de liberación no está incluida en ninguna de las zonas protegidas (reserva de la biosfera, humedales Ramsar, zona ZEPA, etc.) y, por tanto, se considera que el cultivo del tabaco no afecta a las mismas.

– Método de liberación de las PMG

La siembra y germinación de las plantas transgénicas se llevará a cabo en condiciones confinadas en las instalaciones de la empresa Olivos de Badajoz que cuenta con la correspondiente autorización (notificación **A/ES/23/I-19, nave e invernadero**). Las semillas se sembrarán mediante el uso de una sembradora automática en bandejas de poliestireno de 294 alveolos previamente desinfectadas y debidamente codificadas para tener las plántulas identificadas a lo largo de todo el proceso. Tras la siembra, las bandejas se trasladarán desde la nave de siembra al invernadero, situado a una distancia de unos 50 metros, donde se germinarán sobre una balsa de agua. Para evitar la posible dispersión accidental de las semillas durante el traslado, que se realizará con carretilla, las bandejas se apilarán en pallets flejados con film transparente. Tras la finalización de la siembra, la máquina empleada se desmontará para su limpieza, limpiándose cada una de las partes con alcohol. Durante el crecimiento en invernadero se controlarán las condiciones de temperatura, humedad del sustrato, y la sanidad de las plantas que

vayan germinando. En caso de ser necesarias se aplicarán medidas de prevención fitosanitarias. La fecha prevista de trasplante es principios de abril de 2025.

El traslado de las plántulas de tabaco al área de liberación se realizará en furgonetas de transporte de material vegetal adaptadas para este fin. Las bandejas con las plantas irán sobre carros de hierro (aproximadamente 30 bandejas por carro). En este estadio las plántulas de tabaco no contienen órganos reproductores (polen o semillas). A fin de evitar una posible dispersión de las plantas de tabaco en caso de volcado accidental durante el transporte, se procederá a forrar los carros que portan las bandejas con una malla capaz de contener las plantas. Asimismo, se colocará una etiqueta identificando el material como OMG e indicando los datos de contacto de la entidad responsable.

El trasplante en el lugar de liberación se realizará mediante el uso de una transplantadora mecánica. Tras la finalización del trasplante, la maquinaria utilizada se revisará y limpiará dentro del área de liberación asegurándose de eliminar cualquier resto vegetal que se embolsará para su traslado al invernadero y posterior eliminación. En caso de que haya plántulas de tabaco sobrantes estas se devolverán al invernadero junto con los demás semilleros vacíos para su limpieza, realizándose el transporte en las mismas condiciones descritas anteriormente.

- Método de preparación y gestión del lugar de liberación, con carácter previo, simultáneo o posterior a la liberación, con inclusión de prácticas de cultivo y métodos de recolección:

El invernadero utilizado como semillero para la germinación de las semillas se preparará de forma estándar. Una vez se hayan enviado las bandejas con las plantas germinadas listas para su trasplante a la localización de la parcela en el campo, se procederá a limpiar y desinfectar el invernadero de la forma habitual. Tras el trasplante, las bandejas se devolverán al invernadero donde se retirará cualquier resto de material vegetal o sustrato que permanezca en ellas para su eliminación mediante incineración. A continuación, las bandejas se desinfectarán con peróxido de hidrógeno; este proceso se llevará a cabo dentro del propio invernadero.

La preparación de la parcela de cultivo será la habitual para el cultivo de tabaco en la zona. Se aplicarán al suelo las enmiendas orgánicas y la fertilización necesaria, según la Norma Técnica de Producción Integrada del Tabaco.

- Medidas de gestión: control de la liberación y tratamiento de residuos

Las inflorescencias se cosecharán de forma mecanizada. Para minimizar la posibilidad de dispersión de las semillas por rotura o apertura de las cápsulas que las contienen, las inflorescencias se cosecharán antes de su plena madurez, cuando aproximadamente 30-40% de las cápsulas haya virado de color, cuando todavía tengan una pared resistente a la manipulación durante la cosecha que evita su apertura. La cosecha de las inflorescencias se realizará con una máquina compuesta por un rodillo tipo cepillo, similar a los usados en cosecha de cereales, que acerca las inflorescencias hacia el interior del corte. Ese corte se realizará con cuchilla a la altura de las inflorescencias, desplazando a través de una cinta transportadora esas inflorescencias hacia los contenedores instalados en el interior de una plataforma que irá junto al tractor. Para realizar estas tareas se emplearán de 3 a 5 personas. Una vez llenos los contenedores, se cerrarán con tapa hermética. Los contenedores se descargarán de la plataforma en la zona de almacenamiento, habilitada en la propia finca, y apilados de forma segura. El trasladado a las instalaciones de secado y limpieza de las semillas en condiciones confinadas se realizará el mismo día de

la cosecha. La empresa Olivos de Badajoz cuenta con instalaciones previamente autorizadas para el desarrollo de esta actividad (notificación A/ES/23/I-19). El traslado del material se realizará en un camión de transporte que, durante el periodo de cosecha, solo se usará para este fin. En este proceso se necesitarán entre 1-2 personas.

Tras su uso, la maquinaria empleada en la recolección se llevará a una zona controlada, habilitada en el área de liberación, donde se limpiará con aspiración. El interior del camión también se limpiará con una aspiradora. Todos los residuos que se obtengan de la limpieza se tratarán como si fuesen material MG y se almacenarán en las instalaciones confinadas para su posterior destrucción mediante incineración con el conjunto de restos vegetales. El personal que participe en estas tareas estará supervisado por los responsables científicos de la liberación.

Una vez finalizada la limpieza de las semillas, se procederá a limpiar la máquina utilizada (desmontando sus partes), así como las superficies de la sala, recogiendo todo el material vegetal sobrante, que se destruirá mediante incineración. Durante los trabajos de limpieza de semillas se adoptarán medidas adicionales para evitar su dispersión tales como el uso de batas desechables y fundas para el calzado que se destruirán al igual que los demás residuos mediante incineración. Se determinará entonces el peso de las semillas.

Tras la limpieza de las semillas se procederá a su prensado y desgrasado en la misma instalación. La biomasa de semillas parcialmente procesada se envasará en contenedores de plástico (contenedor primario) que se introducirán en un contenedor secundario debidamente sellado e identificado para su traslado a la planta de procesamiento del Instituto de la Grasa en Sevilla. El material que recibirá el Instituto de la Grasa será en todo caso material derivado NO VIABLE (semillas trituradas y desgrasadas) sin capacidad de reproducción o regeneración, ni de replicación del material genético.

Tras la recolección de las inflorescencias, las plantas de tabaco (incluido el borde de plantas control), se cortarán por la base del tallo para su destrucción y se incorporarán al terreno, y junto con las raíces que permanezcan en el área de liberación, serán triturados y enterrados en el suelo de la parcela mediante pases cruzados de grada de discos, vertedera y subsolado. Esta práctica, junto con el efecto de la baja temperatura mantendrá el suelo libre de vegetación hasta el final del invierno. **Si se elige destruir las partes aéreas de las plantas mediante incineración, se solicitaría el permiso de la autoridad competente de la Junta de Extremadura.**

Además, el personal de Olivos de Badajoz realizará un seguimiento de la parcela (incluido el cinturón de seguridad) durante el año posterior a la liberación para la detección y posterior eliminación de cualquier rebrote que pudiese aparecer.

– Estudios de Bioseguridad solicitados por la CNB

A propuesta de la CNB, y con el fin de definir en base a datos empíricos, la dispersión del polen, que a su vez pudiera suponer un posible riesgo de alergenicidad para la salud humana por inhalación del polen, durante la **liberación B/ES/23/34** se analizó la presencia de polen en aire con un captador tipo Hirst (Burkard) con una cinta de poliéster Melinex® impregnada de petrolato blanco y un caudal de aspiración de 10 L/min. Los análisis se realizaron en los periodos del 22 al 29 de octubre y del 29 de octubre al 5 de noviembre, situándose el captador de polen a una distancia de 10 y 25 metros del borde del cultivo,

respectivamente. El recuento de los granos de polen de tabaco se realizó con un microscopio LEICA 5000 usando un objetivo de 40x con un campo de apertura de 0,50 mm y se realizaron cuatro barridos.

Los resultados obtenidos de niveles de polen más altos registrados corresponden al periodo de 24 h comprendido entre las 12:00 del día 27 de octubre y las 12:00 del día 28, cuando el captador estaba situado a 10 metros del cultivo, con una concentración media en 24 h de 1.5 granos de polen/m³ de aire. En el análisis realizado a 25 metros no se detectó ningún grano de polen. Como se ha mencionado, la plantación de tabaco más cercana se trata de otra liberación plantas de la misma línea de tabaco productora de taumatina-2 en la provincia de Badajoz (B/ES/24/40), a una distancia de aproximadamente 30 km. También está prevista la realización de otra liberación de plantas de tabaco editadas genéticamente (mediante CRISPR/Cas) en genes de la familia MPO para la producción de anatabina (B/ES/24/41) en la finca de CTAEX en Villafranco del Gadiana (Badajoz). La distancia entre ambas es de aproximadamente 40 km.

Por tanto, los datos existentes indican que no existe riesgo de dispersión de las plantas modificadas genéticamente a través del polen. No obstante, como medida adicional, propuesta, se incluirán en la parcela dos filas de tabaco convencional rodeando a las plantas transgénicas que actuarán como barrera de polen evitando su dispersión.

La CNB consideró adecuados los métodos propuestos y los resultados obtenidos de estos estudios.

– Descripción de los planes y técnicas de seguimiento

Durante el ciclo de cultivo, personal de Olivos de Badajoz realizará un seguimiento semanal (o más frecuente en algunos periodos) del cultivo e informará al investigador responsable de cualquier anomalía detectada. Tras la cosecha se procederá al triturado y enterrado de los restos de hojas, tallos y raíces mediante pases de grada de discos, vertedera y subsolado. Durante el año posterior a la liberación, personal de Olivos de Badajoz realizará inspecciones visuales semanales del lugar de liberación para detectar y eliminar posibles rebrotes. Se elaborará un registro del número de plantas germinadas en el cinturón que rodea el área cultivada y de la distancia de las mismas con respecto al área ocupada por las plantas transgénicas. Al finalizar la liberación se enviará un informe de resultados a la autoridad competente.

– Descripción de los planes de emergencia

En el caso de que surja una situación de emergencia derivada de fenómenos naturales, se constituirá un grupo de trabajo formado por los responsables de la solicitud y de la liberación de este tabaco. El grupo hará una evaluación de la situación, tomará las decisiones más apropiadas y realizará el seguimiento posterior. **La situación será notificada inmediatamente a la autoridad competente.**

– Métodos y procedimientos de protección del lugar de la liberación

Se indica que la empresa Olivos de Badajoz se compromete a realizar inspecciones periódicas semanales (o más frecuentes en algunos periodos) del lugar de liberación. La parcela en la que se establecerá la liberación se vallará en su totalidad limitándose el acceso a las personas autorizadas (trabajadores autorizados de Olivos de Badajoz). El área se señalizará con un cartel indicando su acceso restringido a personal autorizado.



La CNB considera muy pertinentes estas inspecciones periódicas propuestas para informar de cualquier situación imprevista a los responsables de la liberación y tomar inmediatamente las acciones oportunas, informando igualmente a la Autoridad competente.

Consideraciones finales y conclusión

La CNB considera adecuadas, las medidas propuestas para esta liberación voluntaria de tabaco por el CTAEX, así como las medidas de bioseguridad, antes, durante y después de ésta, que deberán aplicarse teniendo en cuenta las consideraciones de la CNB contenidas en este informe.

La CNB recomienda que, tal y como se establece en la Ley 9/2003 y Real Decreto 452/2019, de 19 de julio, por el que se modifica el Real Decreto 178/2004, de 30 de enero, la liberación sea **controlada** por la Autoridad competente para los casos relacionadas con la realización de los programas de investigación a que se refiere el artículo 3.2.b) de la Ley 9/2003, de 25 de abril, **durante la siembra, la cosecha y destrucción del mismo**, y también durante el seguimiento de un año de la parcela tras la finalización de la liberación, con el fin de garantizar el cumplimiento de todas estas medidas de control y gestión.

Por último, ante cualquier incidencia se deberá informar a la Autoridad competente y a la Comisión Nacional de Bioseguridad y se tomarán las medidas adecuadas, incluida la destrucción de la liberación de campo si fuera necesario.

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las condiciones de uso propuestas y las consideraciones adicionales propuestas por la CNB, la liberación propuesta no supondría un riesgo significativo para la salud humana, animal y el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo **se remitirá un informe final de resultados** del mismo, en español y en inglés, a la Autoridad Competente y a la Comisión Nacional de Bioseguridad conforme al modelo que figura en el Anexo XI del Reglamento 178/2004, de 30 de enero, de desarrollo de la Ley 9/2003.

La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos en campo con organismos modificados genéticamente.

Madrid, a 5 de febrero de 2025