



## EVALUACIÓN DE RIESGO DE UNA LIBERACIÓN EN CAMPO DE PLANTAS DE MAÍZ EDITADAS GENÉTICAMENTE (B/ES/24/23)

### Antecedentes

El 17 de julio de 2024 se recibió desde la Autoridad competente de la Junta de Andalucía, la notificación **B/ES/24/23**, correspondiente a una liberación voluntaria, distinta de la comercialización, de maíz editado genéticamente *DL CRISPR-Cas9*, de Pioneer Hi-Bred Spain S.L., solicitando su estudio por la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB).

El maíz *DL CRISPR-Cas9* se ha desarrollado utilizando la tecnología CRISPR-Cas9 para mejorar la resistencia a dos enfermedades fúngicas del maíz: el tizón del maíz (northern corn leaf blight - NCLB) y la roya del maíz (southern corn rust - SCR).

Esta notificación se estudió en las reuniones 183ª y 184ª de la CNB, celebradas los días 17 de septiembre y 12 de noviembre de 2024, respectivamente.

### Características del OMG, objetivo y duración del ensayo:

Se considera que el maíz *DL CRISPR-Cas9* con resistencia mejorada a NCLB y SCR puede ayudar a los agricultores para luchar contra la pérdida de rendimiento relacionada con la presencia de estas dos enfermedades, el NCLB y la SCR, y a los productores para lidiar con la creciente demanda de maíz a nivel mundial.

Corteva ha desarrollado el maíz *DL CRISPR-Cas9*, que contiene tres genes nativos diferentes, de resistencia a dos enfermedades del maíz, ubicados en un único locus genético determinado, el denominado "*DL*" ("*disease locus*"), lo que permite simplificar la introgresión de estos genes en híbridos comerciales de maíz. El maíz *DL CRISPR-Cas9* expresa dos cisgenes para mejorar la resistencia a NCLB y un cisgén para mejorar la resistencia a SCR; todas las proteínas están codificadas por sus correspondientes secuencias genómicas nativas (cisgenes) presentes en una serie de híbridos convencionales comercializados, y preservando la estructura nativa intrón-exón.

Los fines principales del ensayo de campo son educativos y de demostración sobre el potencial de la tecnología de edición genética.

Se tiene previsto realizar la liberación a partir del 1 de abril 2025 hasta el 31 de diciembre 2025.

### Evaluación del riesgo

#### a) Planta receptora

El maíz es una especie anemófila y monoica, es decir, posee dos inflorescencias separadas sobre un mismo pie. En condiciones normales, el maíz suele polinizarse en más de un 95% por polinización cruzada. No obstante, también se da una pequeña tasa de autopolinización (menos del 5%). El maíz es una especie típicamente alógama.

En cuanto a los factores específicos, en su caso, que afecten a la reproducción, los estadios más críticos del crecimiento son la formación de los penachos y sedas, la polinización, y las situaciones



de estrés relacionadas con la humedad y la fertilidad, las cuales influyen enormemente en el rendimiento del grano. Por regla general, el polen de maíz es viable durante poco tiempo. En condiciones de altas temperaturas y desecación, el polen solo es viable durante minutos. Unas condiciones más benignas podrían alargar la vida del polen en el campo hasta algunas horas.

En cuanto a su período de generación, el maíz es un cultivo anual con un ciclo vegetativo que varía entre 10 y 48 semanas, desde la emergencia de las plántulas hasta la madurez. Esta diferencia de tiempo que precisan los diferentes tipos para alcanzar la madurez es la que permite cultivar el maíz en gran cantidad de condiciones climáticas diferentes.

#### b) Modo y tasa de reproducción

El fenotipo previsto del maíz *DL* CRISPR-Cas9 exhibe una resistencia mejorada a dos enfermedades fúngicas específicas. No se esperan cambios en el modo o modos y/o la tasa de reproducción en el maíz *DL* CRISPR-Cas9 en relación con la planta parental. Los genes *NLB18*, *Ht1* y *RppK* en el maíz *DL* CRISPR-Cas9 son genes nativos no modificados resistentes a dos enfermedades del maíz que están presentes en varios híbridos convencionales comercializados y que podrían haberse incorporado al maíz receptor mediante mejora tradicional.

No se introducen secuencias adicionales en el maíz *DL* CRISPR-Cas9, y se verificó con análisis bioinformáticos que el sitio de inserción diana no causaba alteración de ningún gen endógeno conocido. Por lo tanto, se prevé que el maíz *DL* CRISPR-Cas9 sea comparable en modo o tasa de reproducción al maíz convencional.

#### c) Diseminación.

El fenotipo previsto del maíz *DL* CRISPR-Cas9 exhibe una resistencia mejorada a dos enfermedades fúngicas específicas. No se esperan cambios en la diseminación de este maíz en relación con la planta receptora, el maíz convencional. Los genes *NLB18*, *Ht1* y *RppK* en el maíz *DL* CRISPR-Cas9 son genes nativos no modificados resistentes a dos enfermedades del maíz que están presentes en varios híbridos convencionales comercializados y que podrían haberse incorporado al maíz receptor mediante mejora tradicional.

#### d) Capacidad de supervivencia

El maíz se cultiva en una amplia gama de condiciones climáticas y es adecuado para climas cálidos y templados (OECD, 2003). La supervivencia y la reproducción del maíz están limitadas por condiciones ambientales extremas (estrés por calor, heladas, sequías, lluvias excesivas, etc.) (Shaw, 1988) y también es poco probable que las poblaciones de maíz sobrevivan fuera de entornos agrícolas manejados. En general, después de haberse cultivado maíz en un campo no se producen rebrotes. En los casos en los que aparecen rebrotes en los días posteriores a la cosecha, las nuevas plantas suelen morir por el frío del invierno. No obstante, en condiciones favorables (invierno suave), los rebrotes pueden encontrarse en la primavera, pero raramente llegan a alcanzar la fase reproductora.

No se esperan cambios en la capacidad de supervivencia en el maíz *DL* CRISPR-Cas9 en relación con la planta receptora. No se introdujeron secuencias de adición en el maíz *DL* CRISPR-Cas9, y se verificó bioinformáticamente que el sitio de inserción diana no causaba alteración de ningún gen

endógeno conocido. Por lo tanto, se prevé que el maíz *DL* CRISPR-Cas9 sea comparable en capacidad de supervivencia al maíz convencional.

- e) Probabilidad de que las plantas modificadas genéticamente (PMG) se conviertan en más persistentes que el receptor o las plantas parentales en los hábitat agrícolas o más invasoras en los hábitats naturales.

Los genes *NLB18*, *Ht1* y *RppK* en el maíz *DL* CRISPR-Cas9 son genes nativos no modificados resistentes a dos enfermedades del maíz que están presentes en varios híbridos convencionales comercializados y que podrían haberse incorporado al maíz receptor mediante mejora tradicional. No se identificaron secuencias de plásmidos no intencionales en el maíz *DL* CRISPR-Cas9. Por lo tanto, se prevé que el maíz *DL* CRISPR-Cas9 sea comparable al maíz convencional en relación con el modo o modos y/o la tasa de reproducción, diseminación y supervivencia, y cuando el maíz *DL* CRISPR-Cas9 se ha cultivado en invernadero no se ha observado ninguna diferencia.

En el caso de liberación involuntaria del maíz *DL CRISPR-Cas9* pueden aplicarse prácticas agronómicas habituales que se usan para el control del maíz comercial, tales como el arranque manual o mecánico o la utilización de herbicidas e incorporación al suelo.

- f) Compatibilidad sexual con otras especies vegetales cultivadas o silvestres, indicando la distribución de las especies compatibles en Europa

La región mesoamericana (centro sur de México y Centroamérica) es reconocida como el centro de origen del maíz (OECD, 2003). El maíz tiene una alta tasa de entrecruzamiento y puede polinizar variedades sexualmente compatibles (otros híbridos de maíz cultivados, variedades locales y teosinte) (OECD, 2003).

En el verano de 2014 se detectó el teosinte (*Zea mays* spp.) como mala hierba en campos de maíz de Aragón y, en menor medida, en Cataluña. Hasta la fecha no se ha descrito la presencia de teosinte en Andalucía. Además, la finca donde se realizará el ensayo es propiedad de Pioneer Hi-Bred Spain S.L., y desde hace más de 10 años se realizan ensayos en la misma, no habiéndose detectado la presencia de teosinte en todo este periodo. Por lo tanto, no se espera que haya presencia de teosinte en el área donde se realizará el ensayo, y por ello, el notificador indica que la probabilidad de que haya flujo de genes de los maíces objeto de las notificaciones a la planta silvestre es extremadamente baja.

**CNB: se deberá controlar el área del ensayo durante el tiempo de desarrollo del mismo, y también durante el año posterior, para comprobar la aparición potencial de plantas de teosinte.**

- g) Modificación genética

Corteva ha desarrollado el maíz *DL* CRISPR-Cas9 que contiene tres genes nativos diferentes, de resistencia a enfermedades del maíz, ubicados en un único locus genético determinado, que conforma el denominado "*DL*" ("*disease locus*"). Esto permite simplificar la introgresión en híbridos comerciales de maíz.

En presencia de una plantilla de reparación del ADN, la rotura de doble cadena de ADN (DSB) puede repararse a través de un mecanismo llamado reparación dirigida por homología (HDR) (o

recombinación homóloga (HR)). La plantilla de reparación del ADN contiene la secuencia de interés (en el caso del maíz *DL* CRISPR-Cas9, el locus de secuencia de tres secuencias cisgénicas) flanqueada a cada lado por brazos de homología. Los brazos de homología son secuencias idénticas a las secuencias inmediatamente aguas arriba y aguas abajo de la DSB objetivo. Los brazos de homología inducen HDR y se incorpora la secuencia de ADN de la plantilla de reparación, reparando así el DSB.

### **Información relativa a la liberación voluntaria**

#### **1) Localización y extensión del lugar o lugares de liberación**

Se planea llevar a cabo esta liberación voluntaria durante la campaña de cultivo de maíz 2025, a partir del 1 de abril 2025 hasta el 31 de diciembre 2025.

Este ensayo, junto con otros dos propuestos por la misma empresa (**B/ES/24/21 y B/ES/24/22**) se llevarán a cabo en la Finca de La Rinconada. Se ha presentado el diseño experimental del conjunto de las líneas de las plantas editadas, así como las líneas de maíz convencional no modificado que se van a sembrar rodeándolos, indicando así mismo, que se van a disponer los tres ensayos en la misma parcela de liberación dentro de dicha finca.

Se indica que se podrán sembrar hasta 500 m<sup>2</sup> de plantas de maíz *DL* CRISPR-Cas9, y la superficie total ocupada por la liberación (incluyendo todas las líneas y bordes) no será superior a 5.000 m<sup>2</sup>.

#### **2) Potencial de transferencia de genes a las mismas o a otras especies de plantas sexualmente compatibles en las condiciones del ensayo**

El ensayo se encuentra en zonas en las que suele cultivarse maíz. En Europa no había especies vegetales silvestres sexualmente compatibles con el maíz, sin embargo, desde 2014 se detecta la presencia de un pariente silvestre (teosinte), especie de origen mesoamericana solo el maíz cultivado sería sexualmente compatible, pero se mantendrá una distancia de aislamiento de 200 metros a otros campos de maíz cultivado.

#### **3) Descripción del ecosistema del lugar de liberación, con inclusión de datos sobre el clima, flora y fauna**

El lugar elegido para la realización de este ensayo se encuentra en una zona agrícola fuera de biotopos oficialmente reconocidos o de áreas protegidas. La fauna y la flora no presentan características especiales.

#### **4) 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 lugar se preparará según las prácticas agronómicas corrientes para el cultivo de maíz en el área. La máquina sembradora, y también la cosechadora si las hubiera, se limpiarán antes de salir del lugar del ensayo. Si se tuviesen que recoger algunas semillas, se recogería toda la mazorca y se destruirán la mazorca y todas las semillas que no se utilicen. Al terminar la liberación, todos los restos vegetales, incluyendo las filas del borde agronómico sembradas con maíz convencional que rodean al lugar del ensayo, serán destruidos mediante su troceado e incorporación al suelo mediante un roturado profundo.



Tras la liberación, la parcela se visitará durante un periodo de un año para asegurar la retirada de plantas adventicias de maíz si las hubiera. Aunque las plantas adventicias en general no pueden sobrevivir a un invierno duro, se llevará a cabo un seguimiento de las posibles plantas adventicias de maíz para asegurarse de su destrucción antes de la floración.

No se plantará maíz comercial en la misma parcela el año siguiente, aunque el notificador indica que se podrá utilizar la misma parcela para realizar ensayos en Parte B.

El número aproximado de plantas (o plantas por metro cuadrado) será de una densidad de plantas de hasta 100.000 plantas/ha.

**CNB: el seguimiento de las posibles plantas adventicias o rebrotes deberá realizarse en la parcela utilizada durante el año siguiente a la finalización de este ensayo.**

#### 5) Método de liberación de las plantas modificadas genéticamente

Las semillas se recibirán en recipientes individuales y debidamente etiquetados y serán transportadas al campo el mismo día de la siembra. Las actividades de manipulación necesarias para la realización del ensayo serán llevadas a cabo por personal cualificado y familiarizado con las medidas preventivas para evitar la dispersión.

Las semillas serán sembradas en filas, manualmente o utilizando una máquina sembradora. Para facilitar el acceso a las plantas, se crearán pasillos al final de las líneas. Se ha adjuntado el mapa del ensayo y la referencia catastral de la parcela.

El polen liberado de las plantas de maíz *DL* CRISPR-Cas9 se controlará manteniendo una distancia de aislamiento de 200 metros con cualquier otro cultivo comercial de maíz. Como se hace en cualquier ensayo con maíz convencional, el sitio del ensayo estará rodeado de hileras agronómicas de maíz convencional de madurez similar. Las filas de borde agronómico también se destruirán al final de la liberación.

Los granos se adhieren a una mazorca y quedan encerrados en múltiples espigas que protegen las semillas del contacto exterior. Por lo tanto, no es probable que se produzca la eliminación de granos individuales. Si se tuviesen que recolectar semillas, esto se hará tomando muestras de la mazorca entera y las semillas no utilizadas se destruirán.

#### 6) Descripción de los métodos de tratamiento del lugar tras la liberación

Una vez finalizada la liberación, todos los restos de material vegetal (todas las partes vegetativas de las plantas y el grano si lo hubiera) se destruirán troceándolos e incorporándolos en el suelo mediante un roturado profundo. Las filas del borde agronómico sembradas con maíz convencional que rodean al lugar del ensayo se destruirán también al terminar la liberación.

El año siguiente no se plantará maíz comercial en la misma parcela. Aunque las plantas adventicias en general no pueden sobrevivir a un invierno duro, las plantas adventicias de maíz, si las hubiera, serían sometidas a seguimiento. La parcela será inspeccionada regularmente durante un periodo de un año tras el final de la liberación para asegurarse de la destrucción de plantas adventicias de maíz, si las hubiera, antes de la floración.



Ninguna planta o producto vegetal procedente del ensayo entrará en las cadenas alimentarias o de piensos.

**CNB: Si aparecieran rebrotes, se deberá comunicar a la Autoridad competente y a la Comisión Nacional de Bioseguridad, y éstos deberán ser eliminados.**

7) Información sobre los planes de control, seguimiento y tratamiento de residuos tras la liberación

a) Distancia o distancias de especies vegetales compatibles sexualmente, tanto variedades silvestres afines como cultivadas: se mantendrá una distancia de aislamiento de 200 metros a otros campos de maíces que pueden ser compatibles sexualmente.

b) Medidas para reducir o evitar la dispersión de cualquier órgano reproductor de las PSMG (por ejemplo, polen, semillas, tubérculos): se recibirá las semillas en envases individuales según las necesidades de la siembra, cerrados, debidamente etiquetados como “conteniendo material modificado genéticamente”, y serán transportadas al campo el mismo día de la siembra en un doble embalaje.

Además de la distancia de aislamiento de 200 metros a otros cultivos no experimental de maíz, como se hace en los ensayos de maíz convencional, el lugar del ensayo se rodeará con filas de bordura agronómica de maíz convencional de una madurez similar. Estas filas de bordura agronómica también se destruirán al final de la liberación.

Los granos están fijados a una mazorca y rodeados de muchas espigas que les protegen del contacto con el exterior. Así, no es probable que ocurra la dispersión de las semillas individuales. Si se tuviesen que recolectar algunas semillas, se recogería toda la mazorca y se destruirán la mazorca y todas las semillas que no se utilicen.

c) Descripción de los planes y técnicas de seguimiento: durante la liberación se visitarán regularmente las parcelas de ensayo a fin de satisfacer las necesidades agronómicas y experimentales, o al menos una vez cada cuatro semanas. Estas visitas también permitirán seguir el crecimiento de las plantas y controlar que no se disperse el material. Tras el final de la liberación, la parcela será inspeccionada regularmente por un periodo de un año, y a lo menos en los momentos importantes para el cultivo de maíz (siembra, floración, cosecha), para vigilar la aparición de plantas adventicias. Si surgieran plantas adventicias, estas serían retiradas manualmente o destruidas antes de su floración con un herbicida. Además, para facilitar el control de cualquier posible planta adventicia, no se sembrará ningún cultivo comercial de maíz en la misma parcela el año siguiente.

Al finalizar la liberación se entregará a la Autoridad Competente un informe de acuerdo con la Decisión 2003/701/CE.

d) Descripción de los planes de emergencia: el seguimiento regular del ensayo permitirá la identificación inmediata de cualquier hecho o situación no deseados provocados por factores externos, como por ejemplo condiciones climáticas desfavorables. En caso de emergencia, la persona de contacto informará inmediatamente a la Autoridad competente encargada del control del ensayo para definir cuáles son las medidas que deberán aplicarse. Según las necesidades, el ensayo podría detenerse y destruirse mediante la destrucción mecánica o la pulverización con un herbicida y mediante la incorporación en el suelo con un roturado profundo. En cualquier caso, la evaluación del impacto medioambiental no ha identificado





ningún efecto adverso para la salud humana o animal ni para el medio ambiente derivado de la liberación voluntaria maíz *DL* CRISPR-Cas9.

### **Consideraciones finales y conclusión**

La CNB considera adecuadas las medidas propuestas para la liberación voluntaria propuesta **B/ES/24/23** por Pioneer HiBred Spain S.L., así como las medidas de bioseguridad, antes, durante y después del ensayo, 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, el ensayo sea **controlado** 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 del ensayo, 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 del ensayo de campo si fuera necesario.

**CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de control y uso propuestas, este ensayo experimental en campo con maíz modificado genéticamente no supone un riesgo significativo para la salud humana y/o el medio ambiente.**

Una vez concluido los ensayos de campo de cada campaña, se remitirá un **informe de resultados** de los mismos, 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, así como la información adicional solicita por la CNB en este informe. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid, a 22 de noviembre de 2024