



**INFORME DE EVALUACIÓN DEL RIESGO DE LA LIBERACIÓN VOLUNTARIA EN  
CAMPO DE PLANTAS DE MAÍZ MODIFICADO GENÉTICAMENTE, DEL FLEMISH  
INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY (VIB) - EUROFINS AGROSCIENCE SERVICES**  
**(Notificación B/ES/25/13)**

**Antecedentes**

El 18 de marzo de 2025 se recibió, desde la Autoridad competente de Aragón, la notificación **B/ES/25/13**, correspondiente a una liberación voluntaria de un maíz editado genéticamente tolerante a la sequía, del VIB vzw (Flemish Institute of Biotechnology, "VIB") - Eurofins Agroscience Services.

El objetivo principal de esta liberación voluntaria es la investigación científica sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas para comprobar su crecimiento en condiciones reales de cultivo y si muestran un mejor crecimiento en el campo cuando se producen períodos de sequía. El periodo propuesto para su realización será desde mayo a noviembre de 2025.

Esta notificación se estudió en la reunión 188<sup>a</sup> de la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), celebrada el día 9 de abril de 2025.

Tras la reunión de la CNB se acordó solicitar la aclaración de cuestiones sobre: el origen de las semillas, la parcela utilizada, el diseño experimental del ensayo y la superficie del ensayo en m<sup>2</sup>, la variedad de maíz que se utilizará como polinizadora, la existencia de teosinte en la zona, la distancia de aislamiento con respecto a otros campos de maíz, la inactivación de las panículas eliminadas y demás material vegetal, transporte, tanto de las semillas como del material cosechado, la propiedad de la parcela y, si es arrendada, las condiciones de arrendamiento, planes de emergencia, y finalmente, sobre los sucesivos ensayos anuales previstos con la misma planta modificada genéticamente.

El notificador contestó satisfactoriamente a las cuestiones de la CNB el 16 de abril de 2025 y las respuestas están reflejadas en este informe.

**Objetivo y características de la Planta Modificada Genéticamente (PMG)**

**Características y objeto de la liberación**

El ensayo de campo se realiza en el marco de la investigación científica sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas. En este caso, este ensayo científico de campo tiene la finalidad de comprobar cómo crecen las plantas en condiciones reales de cultivo y si muestran un mejor crecimiento en el campo cuando se producen períodos de sequía.

En estas plantas se ha mutado, mediante dos delecciones, el gen *H1L* (*Histon1 like*). Por tanto, es una variante del gen H1 que, en su forma natural, se expresa más durante la sequía y cuya expresión vuelve a disminuir cuando aumenta de nuevo la cantidad de humedad en el ambiente. El gen pertenece a la familia de las "histonas enlazadoras", y además de las histonas básicas H2, H3 y H4, se trata de importantes componentes de la cromatina en plantas y animales. Las variantes H1 están implicadas en la



condensación de la cromatina, haciéndola más compacta y, por tanto, inaccesible para la transcripción (Fyodorov *et al*, 2018)<sup>1</sup>.

El periodo de liberación que se propone será desde mayo a noviembre de 2025.

### Modificación genética

Las plantas de maíz, de la línea endogámica B104 que se va a utilizar en este ensayo no contienen ADN foráneo. Las líneas de maíz Da y C se obtuvieron realizando pequeños cambios (mutaciones) en el gen H1L mediante la tecnología CRISPR/Cas9. Para ello, se introdujo una delección en el gen H1L: -266 pb en la línea Da y -79 pb en la línea C. Ambas delecciones causan una mutación «fuera de marco» que hace que el gen H1L no sea funcional. La modificación realizada en el maíz tiene el efecto de que, durante los períodos de sequía, no se inhiba el crecimiento de las plantas al hacer la cromatina más inaccesible para la transcripción.

Para inducir las mutaciones, los genes que codifican el sistema CRISPR/Cas9 se introdujeron inicialmente en la célula vegetal utilizando *Agrobacterium tumefaciens* y se seleccionaron en medio que contenía higromicina, se indujo al tejido calloso a formar plantas, a partir de este tejido transgénico y mutado. A partir de las plantas así creadas, se seleccionaron las plantas que contenían las mutaciones deseadas y se sometieron a un programa de cruzamiento con el objetivo de obtener plantas que poseyeran la mutación o mutaciones pero que ya no poseyeran el ADN-T que contenía los genes CRISPR/Cas9. Así pues, el producto final del proceso son plantas que contienen una mutación en el gen H1L, sin ningún ADN foráneo.

Los embriones inmaduros de maíz de la línea endogámica B104 fueron co-cultivados con *Agrobacterium tumefaciens*, que portaba la modificación transferible en su ADN-T. A continuación, los embriones inmaduros de maíz se convirtieron en tejido de callo embriogénico. Tras la selección en un medio que contenía higromicina, se indujo al tejido calloso a formar raíces y partes verdes de la planta. Las pequeñas plantas se aclimataron y se transfirieron a macetas para alcanzar la etapa de plantas maduras.

Se seleccionaron plantas con mutaciones homocigóticas para retrocruzarlas con plantas de la línea de maíz de referencia B104. La progenie de este cruce se examinó para detectar la falta de detección del constructo de ADN-T mediante qRT-PCR con cebadores específicos del constructo. Estos cebadores detectan diferentes elementos del ADN-T, así como el marcador de resistencia bacteriana, situado en el esqueleto del vector de transformación. Dado que se llevó a cabo la selección utilizando higromicina, sólo se seleccionaron las plantas que contenían el ADN-T completo y, por lo tanto, contenían definitivamente el gen Cas9. En casos excepcionales, también puede insertarse el plásmido completo.

Para obtener las líneas de maíz Da y C, se utilizó el vector pMHb\_ H1L. El vector y la construcción de ADN-T ya no están presentes en las plantas que se liberarán en el campo.

Al seleccionar los descendientes que no muestran amplificación de ninguna parte del ADN-T, ni del vector, se tiene la certeza suficiente de que se trata de verdaderos “segregantes nulos” que ya no contienen ningún ADN no-específico de la especie. Mediante genotipado, se seleccionaron plantas heterocigóticas para las mutaciones inducidas. La autopolinización de estas plantas dio lugar a una población segregante de mutantes de tipo silvestre, heterocigotos y homocigotos. Las plantas T2 con las

<sup>1</sup> Fyodorov DV, Zhou BR, Skoultschi AI, Bay Y, (2018). Emerging roles of linker histones in regulating chromatin structure and function, Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 192-206.



mutaciones homocigotas se seleccionaron para trabajos posteriores. Las plantas homocigóticas T3 se utilizarán en el ensayo de campo.

En cuanto a la estabilidad fenotípica de las plantas Da y C, el fenotipo se mantiene durante varias generaciones en el invernadero.

### **Información sobre áreas específicas de riesgo**

- a) Probabilidad de que las PSMG se conviertan en más persistentes que el receptor o las plantas parentales en los hábitat agrícolas o más invasoras en los hábitats naturales

Se menciona que el maíz no posee las características para establecerse en la naturaleza en España. Es más probable que la falta de adaptación del maíz al ambiente natural en España, en lugar de la falta de tolerancia a la sequía, sea la causa de la incapacidad del maíz para establecerse en la naturaleza. Por lo tanto, es difícil imaginar que las plantas de maíz con una mayor tolerancia a la sequía se vuelvan más persistentes que las plantas parentales en los hábitat agrícolas o más invasivas en hábitats naturales. Consideran extremadamente improbable que la tolerancia a la sequía sea el único factor que permita que el maíz se establezca en la naturaleza en España.

- b) Cualquier ventaja o desventaja que haya adquirido la PMG

Las plantas de maíz modificadas tienen una mutación en un gen de histona que forma uno de los componentes básicos de la cromatina. Los experimentos en invernadero con plantas de maíz bajo estrés por sequía muestran que este gen de histona se expresa adicionalmente durante los períodos de sequía y sugieren que el crecimiento de las plantas se pausa bajo esas condiciones y se pasa a un proceso de crecimiento básico. Al mutar el gen de histona, se desactiva el botón de pausa, y se promueve la transcripción de genes necesarios para el crecimiento en condiciones de sequía.

- c) Potencial de transferencia de genes a las mismas o a otras especies de plantas sexualmente compatibles en las condiciones de plantación de las PMG y cualquier ventaja o desventaja selectiva que adquieran dichas especies de plantas

La transferencia de genes de planta a planta no es posible como resultado del ensayo de campo. Las flores masculinas se eliminan antes de que puedan dispersar polen. Si dicha transferencia de genes fuera posible, no se espera que se transfieran ventajas selectivas a las plantas receptoras. La característica genética es recesiva, lo que significa que las plantas receptoras no mostrarán un fenotipo. Solo cuando dos alelos mutantes se cruzan, las plantas receptoras pueden mostrar tolerancia a la sequía.

- d) Impacto potencial sobre el medio ambiente inmediato y/o diferido resultado de interacciones directas e indirectas entre las PSMG y los organismos objeto de la investigación como predadores, parasitoides y patógenos (en su caso).

No es aplicable. La modificación realizada en el maíz no está dirigida a un organismo objetivo específico. Las plantas de maíz solo están modificadas en la organización de su cromatina.



e) Possible impacto sobre el medio ambiente inmediato y/o diferido resultado de interacciones directas e indirectas entre las PMG y los organismos no diana

No se esperan efectos en las interacciones entre las plantas de maíz genéticamente modificadas y los organismos no objetivo. Las plantas no producen factores dirigidos a un organismo objetivo específico que también podrían afectar a los organismos no objetivo. Se trata de plantas que continúan creciendo mejor bajo sequía que las plantas de maíz no modificadas.

Se considera extremadamente improbable la transferencia de genes de las plantas modificadas a los microorganismos. Como resultado de la edición del genoma utilizando CRISPR-Cas, no se han introducido secuencias que puedan promover una posible transferencia de genes, como secuencias génicas microbianas que puedan fomentar la recombinación homóloga entre secuencias en la planta y en los microorganismos. Las modificaciones se limitan a pequeñas delecciones o una pequeña inversión en genes existentes del maíz. La probabilidad de que tales genes sean absorbidos por microorganismos no es diferente de la probabilidad de que cualquier secuencia de maíz al azar sea absorbida con cualquier mutación aleatoria que pueda haber ocurrido espontáneamente.

f) Posibles efectos inmediatos y/o diferidos sobre la salud humana

Ninguno. No hay razones para suponer que el crecimiento continuo de las plantas bajo sequía podría tener un efecto en la salud de humanos. El maíz del ensayo de campo no se introducirá en la cadena alimentaria humana. Todo el material reproductivo, las mazorcas con semillas, se llevará al laboratorio donde se utilizará para investigaciones adicionales o se destruirá. El material no reproductivo se triturará en el campo y se compostará allí. La exposición al maíz modificado por parte de humanos se limita a las personas que manipulan las semillas y plantas en el campo.

### **Información sobre la liberación voluntaria**

- Localización y extensión del lugar o lugares de liberación

La liberación se realizará en la localidad de Daroca (Zaragoza), se han aportado las coordenadas geográficas. La parcela donde se llevará a cabo el ensayo es de propiedad privada y se ha llegado a un acuerdo con el propietario para su utilización y realización de labores necesarias durante el año 2025, con la posibilidad de renovación.

El área del campo es de 5.731 m<sup>2</sup>, pero el área experimental del ensayo es de 35 m x 21 m ocupando un área total de 735 m<sup>2</sup>. Se ha presentado el diseño experimental del ensayo, incluyendo distancias y superficies. Las fechas y duración previstas de la liberación será la temporada de cultivo del año 2025 (desde mayo a noviembre 2025).

Los cultivos en la zona donde está localizada la parcela son en su mayoría cereales (trigo y cebada), vid y almendro. No existe ninguna zona de protección especial para aves u otros animales. El área tiene un clima semiárido frío, según la clasificación climática de Koppen (BSk), con una precipitación media cercana a 400 mm/año y una temperatura media de 12°C y altas diferencias en temperatura entre día/noche y Verano/Invierno.



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

Indican que no existen parientes silvestres de la planta objeto de liberación en la zona del ensayo, que el Centro de Sanidad y Certificación Vegetal del Gobierno de Aragón les ha comunicado que el término de Daroca no tiene problemas de teosinte y, además, la distancia de aislamiento a otros cultivos de maíz será mínimo de 100 metros.

**La CNB considera que durante la realización del ensayo se deberán asegurar de que no haya plantas teosinte en la zona, al menos en esa distancia de 100 m alrededor del ensayo, y en caso de aparición, eliminarse antes de la floración.**

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

El ensayo no se encuentra localizado en ninguna área protegida o espacio natural protegido.

- Método de liberación de las plantas modificadas genéticamente

Las semillas de las plantas que se plantarán en la parcela provienen de Bélgica y se recibirán en Eurofins Agrosciences Services, ubicada en Zaragoza.

Se propone realizar el transporte de semillas y de material cosechado en cajas de cierre hermético y etiquetadas. El transporte desde la base de Eurofins se realizará en vehículos de la empresa con personal propio.

**La CNB considera que las semillas se deben envasar y transportar en doble contenedor, para evitar su dispersión en caso de incidente.**

El maíz se sembrará a mano. La zona de introducción se someterá a laboreo mecánico (arado, cultivador y cultivadora) antes de la introducción con el objetivo de obtener un lecho de siembra suficientemente aireado y desmenuzado.

- 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

Durante la temporada, se aplicará herbicida y/o control manual de malas hierbas una o varias veces, como es habitual en el cultivo de maíz. La recolección de las plantas de maíz enmendadas se hará a mano. Se tendrá especial cuidado en recoger todas las mazorcas/semillas, incluidas las más pequeñas, que son el único material reproductivo.

Tras la cosecha, la parcela permanecerá en barbecho durante algún tiempo antes de ser arada, a más tardar, en la primavera siguiente. El ensayo se realizará las tres temporadas consecutivas en la misma parcela, pero no exactamente en el mismo lugar por razones científicas.

El número aproximado de plantas serán unas 10 plantas por  $m^2$ , donde la superficie de maíz modificado junto con la superficie de las líneas de referencia y las hileras de protección (borde) no superará los 735  $m^2$ .



- Medidas para reducir o evitar la dispersión de cualquier órgano reproductor de las PMG

La distancia de las plantas de maíz no modificadas será mínima. El ensayo se plantará en una parcela en donde el resto está ocupado por trigo de primavera. Los campos que están a 100 m tienen trigo, cebada, lúpulo y patata, y no hay campos de maíz.

Para evitar la propagación del rasgo modificado, **se propone la eliminación de las flores masculinas de las plantas de maíz modificadas antes de la propagación del polen**. De este modo, se evitará al 100% la propagación del rasgo modificado a las plantas de maíz circundantes, si las hubiera.

El seguimiento de las inflorescencias comenzará en el momento de la formación de la última hoja. La parcela de ensayo se visitará cada dos días para comprobar si hay inflorescencias masculinas. Las flores masculinas se eliminan tan pronto como son visibles y la experiencia ha demostrado que, si el control se realiza cada dos días, una flor masculina nunca podrá alcanzar una fase en la que sea capaz de dispersar el polen.

La eliminación de inflorescencias masculinas se detendrá en cuanto se hayan eliminado todas las inflorescencias masculinas (el número de plantas del ensayo se conocerá al detalle (también por hilera), y el número de inflorescencias masculinas eliminadas por hilera se controlará estrictamente, por lo que se sabrá perfectamente cuándo se han eliminado todas las flores masculinas, además, esto también se puede comprobar visualmente). En caso de que no se hayan eliminado todas las flores masculinas antes del 15 de septiembre, el seguimiento y la eliminación de flores se detendrán de todos modos en esa fecha, ya que en ese momento cualquier dispersión de polen ya no puede dar lugar a la propagación de material alterado.

Alrededor del maíz modificado y del maíz de referencia se utilizará un tampón de 3 metros de maíz no modificado como líneas polinizadoras que, al igual que la parcela de ensayo, se destruirá después de la cosecha. La variedad utilizada como polinizadora será la variedad de maíz B104.

**La CNB considera que el seguimiento y eliminación de las inflorescencias masculinas debe llevarse a cabo de manera precisa y estricta durante el ensayo, tal y como se propone.**

- Descripción de los métodos de tratamiento tras la liberación, en cuanto a la recogida y los residuos de la planta modificada genéticamente.

La cosecha de las plantas de maíz se realizará manualmente. Algunas plantas se cosecharán completamente para determinar parámetros como el peso y el contenido de materia seca de tallos, hojas y mazorcas de esas plantas en cada caso. De las plantas restantes, sólo se cosecharán las mazorcas. Esto se hará con mucho cuidado, eliminando incluso las mazorcas más pequeñas. Todo el material cosechado se introduce en bolsas cuidadosamente etiquetadas y selladas y se transporta en un vehículo cerrado al VIB para su posterior investigación.

La CNB considera adecuada la propuesta del notificador en cuanto a que todo el material vegetal que ya no se necesite para la investigación se inactivará mediante trituración y enterramiento en un agujero en el campo. Dicho agujero será tapado con tierra.



#### - Descripción de los planes y técnicas de seguimiento

El ensayo se controlará visualmente. Este seguimiento visual tendrá lugar a intervalos regulares (al menos dos veces al mes) y se intensificará durante el período de aparición de las inflorescencias masculinas. Este período de seguimiento intensivo comenzará como ya se ha mencionado en el momento en que se forme la última hoja y tendrá lugar cada dos días hasta que se eliminen todas las inflorescencias masculinas. Las inflorescencias masculinas se eliminan enteras a mano. Las panículas se eliminan en contenedores cerrados en un medio de transporte cerrado y se inactivan.

#### - Descripción de los planes de emergencia

Una primera medida de emergencia consiste en dotar a la parcela de ensayo de un colchón (buffer) de 3 metros de plantas de maíz no modificado genéticamente que, al igual que la parcela de ensayo, se destruirá después de la cosecha. En caso de que una planta de maíz modificado genéticamente se vuelque, quedará atrapada por el tampón y si se encuentra una planta de maíz volcada durante un control, se retirará, incluidas las mazorcas y las semillas, y se destruirá mediante triturado y enterramiento.

En caso de cualquier incidencia, como por ejemplo daño deliberado al ensayo, una vez detectado, el material dañado que no se pueda salvar se limpiará y destruirá cuidadosamente mediante triturado y enterramiento.

### **Consideraciones finales y conclusión**

La CNB considera adecuadas las medidas propuestas para esta liberación voluntaria propuesta por el Flemish Institute of Biotechnology, "VIB"), con la colaboración de Eurofins Agroscience Services, así como las medidas de bioseguridad, antes, durante y después de la liberación, aunque se tendrán en cuenta las cuestiones señaladas por la CNB.

Se comunica que, en el caso de que se quiera repetir esta liberación voluntaria en años sucesivos, cada año se deberá enviar a la Autoridad competente el formato resumido de la notificación (SNIF) con los nuevos datos de localización, fechas, diseño, etc., o cualquier información que cambie con respecto a la notificación inicial. Tanto los informes de la CNB como las autorizaciones de la Autoridad competente serán anuales.

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, esta liberación voluntaria 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, cosecha y destrucción de la misma**, y también durante el seguimiento de un año de la parcela tras su finalización, 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 experimental 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 concluida esta liberación se **remitirá un informe final de resultados**, 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 liberaciones voluntarias en campo con organismos modificados genéticamente.

Madrid, a 24 de abril de 2025