



COMENTARIOS DE LA COMISIÓN NACIONAL DE BIOSEGURIDAD SOBRE LAS NUEVAS TÉCNICAS DE MEJORA VEGETAL (NTMV)

Comentarios generales

De acuerdo con la definición legal de organismo modificado genéticamente (OMG), podría no estar claro si productos obtenidos por nuevas técnicas de mejora vegetal (NTMV) se considerarían a priori un OMG o no, dado que no generan nuevas combinaciones de material genético que pueden no ocurrir naturalmente o que están incluidos en las exenciones previstas en la legislación actual. En estos casos, siempre sería necesaria una evaluación “caso por caso”. Teniendo en cuenta el rápido avance de las técnicas de biología molecular, la regulación de OMG debería centrarse en el organismo final (producto) y no en el proceso o técnica de obtención.

Con respecto a algunas NTMV específicas, se considera lo siguiente:

Mutagénesis dirigida por oligonucleótidos (OMD)

Durante el proceso de obtención, los oligonucleótidos se introducen en las células induciendo cambios específicos en el material genético. Además, los oligonucleótidos no se propagan y no contienen secuencias necesarias para la replicación, es decir, no se transmiten a la descendencia. La técnica OMD causa cambios en el genoma que son indistinguibles de los obtenidos por las técnicas tradicionales de mutagénesis.

Por ello debe considerarse que la técnica OMD no da como resultado un OMG.

Tecnología de nucleasas de dedos de zinc (ZFN, del inglés zinc-finger nucleases, (ZFN o SDN)

Esta tecnología se basa en el uso de proteínas que se unen a una secuencia determinada y producen una rotura en ella. La maquinaria normal de reparación del ADN repara la rotura mediante recombinación homóloga. La rotura de la doble cadena y la posterior reparación pueden introducir cambios específicos en la secuencia original. Esta técnica se designó inicialmente como ZFN por el uso de nucleasas de dedo de zinc. Se han desarrollado técnicas similares que usan otros tipos de proteínas, de modo que actualmente se usa el nombre de SDN (*Site Based Nucleases*).

Hay tres tipos de SDN. Todos producen cambios en sitios específicos del genoma, pero difieren en el tipo de cambio:



- SDN1: el cambio en el ADN es aleatorio dando como resultado pequeñas deleciones, adiciones o sustituciones de nucleótidos. Los efectos de SDN1 son similares a los que podrían obtenerse mediante métodos de mutagénesis, por lo que el organismo resultante no debería considerarse un OMG.
- SDN2: el cambio en el ADN es predeterminado e implica la eliminación, adición o sustitución de uno o unos pocos nucleótidos.

Si el efecto es la sustitución de un nucleótido por otro, el resultado de SDN2 es similar a los que podrían obtenerse mediante métodos de mutagénesis, de manera que el organismo resultante no debería considerarse un OMG. Por lo tanto, la técnica con SDN-2 ya estaría contemplada en el Anexo IB y estaría excluido de la Directiva 2001/18 / CE.

Si el efecto es la eliminación o adición de uno o más nucleótidos, la consideración como OMG debe determinarse "caso por caso". De cualquier modo, el objetivo de SDN2 no es introducir nuevos genes, sino modificar los existentes, y esto debería tenerse en cuenta en las evaluaciones, independientemente de si se considera que conducen a la obtención de un OMG.

- SDN3: el cambio producido es la introducción de un fragmento de ADN en un lugar específico del genoma. El tamaño del fragmento insertado puede ser desde unos pocos nucleótidos a unos cuantos miles. En este sentido, es similar a lo que se puede obtener con métodos más "tradicionales" de transformación genética, pero difiere en que el sitio de inserción es único y específico.

Por lo tanto, los organismos obtenidos por SDN3 deben evaluarse como un OMG, pero teniendo en cuenta que el sitio de inserción es conocido.

Otro punto a considerar sobre la técnica basada en SDN es que no requieren la inserción en el genoma de genes que codifican para nucleasas. Estos genes pueden introducirse temporalmente en las células o, en algunos casos, la proteína puede introducirse directamente. Relacionado con este tema estaría la tecnología CRISPR/Cas cuyo uso debería considerarse en algún momento.

Muchos expertos opinan que en la Directiva 2001/18/CE debe aclararse que la "mutagénesis" (excluida en el Anexo IB) incluiría la tecnología SDN1/SDN2.

Cisgénesis e Intragénesis

La cisgénesis es la modificación genética de una planta receptora con un gen natural de especies compatibles para el cruzamiento. Permite la transferencia de genes específicos sin la necesidad de largos períodos de selección repetidos. Esto permite introducir un rasgo genético, por ejemplo, de una variedad a otra, al menos 4 veces más rápidamente que con los métodos tradicionales y es especialmente útil en especies difíciles de cruzar con períodos de generación muy largos.



Los productos de la cisgénesis deberían clasificarse como OMG. Sin embargo, los efectos del gen introducido son indistinguibles de los producidos en la variedad de origen y las únicas diferencias podrían ser las relacionadas con la inserción del cisgén en el genoma. Los análisis de seguridad deberían centrarse en esta cuestión.

En algunos casos, esta técnica puede cumplir los criterios de autoclonación descritos en la parte A del anexo II de la Directiva 2009/41/CE y, en ese caso, puede considerarse que no está incluida en el ámbito de aplicación de la dicha Directiva.

Se supone que la cisgénesis y la cisgénesis con secuencias borde del ADN-T idénticas o muy similares ($\geq 85\%$ de identidad) ya presentes en la misma especie o especies compatibles sexualmente, pueden considerarse como organismos equivalentes a los que resultan de la autoclonación y, por lo tanto, podrían considerarse fuera del alcance de la Directiva 2009/41/CE.

Técnica del Injerto

La técnica del injerto es un método de propagación de plantas mediante el cual un componente vegetativo de una planta (el injerto) se une a una parte enraizada de otra planta (el portainjerto) para producir un organismo quimérico con características de cultivo mejoradas.

El injerto se usa principalmente para permitir el crecimiento de variedades de valor comercial en condiciones desfavorables, aprovechando la mayor resistencia de la parte enraizada utilizada, o para asegurar que las características productivas de un ejemplar permanezcan inalteradas en comparación con la dispersión genética introducida por la reproducción sexual.

El injerto solo es posible entre especies más o menos estrechamente relacionadas. Una vez que se establece el injerto, las ramas de la parte enraizada generalmente se eliminan por completo, de modo que si se trata de una planta cultivada por sus frutos, ninguno de ellos proviene del portainjerto.

Si el injerto se realiza en un portainjerto genéticamente modificado, las características beneficiosas adquiridas por los portainjertos transgénicos aumentan la calidad del fruto al mejorar el vigor de la planta, pero la alteración genética del portainjerto no afecta al polen ni a las semillas.

En estos casos, los portainjertos deberían considerarse un OMG, pero no el injerto y los productos derivados.



Agroinfiltración

Esta técnica implica el uso de *Agrobacterium* modificada genéticamente como vector para producir ciertos efectos en algunos tejidos de la planta pero no en los órganos reproductivos. Por lo general, se aplica a las hojas.

Esta técnica se usa principalmente para identificar, a partir de una población de plantas, individuos que tienen mecanismos de resistencia. El material genético introducido en el tejido vegetativo de la planta no se incorpora a la línea germinal y, por lo tanto, no se incorpora a las semillas ni al polen.

Por lo tanto, en aquellos casos en los que la agroinfiltración se usa para expresión transitoria en tejido o célula vegetal, y por lo tanto el ADN recombinante no se replica y/o integra en el genoma de la planta y no se genera progenie de la planta infiltrada, la planta utilizada para la generación del producto no debe considerarse un OMG. Sin embargo, los *Agrobacterium* utilizados son organismos transgénicos que debería regularse ya que tiene la capacidad de reproducirse.

Metilación de ADN dependiente de ARN (RdDM)

La metilación de ADN dependiente de ARN (RdDM) es una técnica que hace uso de una pequeña molécula de ARN de doble cadena que induce la metilación en una secuencia de ADN diana mediante el mecanismo de defensa natural del organismo, inhibiendo así la transcripción del gen diana. Como resultado, el gen diana se silencia sin cambiar la secuencia de ADN.

Como no hay alteración de la secuencia de ADN, el organismo resultante no debe considerarse un OMG.

Reproducción inversa

La reproducción inversa es una nueva técnica que produce una línea parental homocigótica para ser utilizada en la reconstrucción de cualquier planta híbrida con padres (des)conocidos mediante la supresión de la recombinación genética.

Esto se logra mediante un paso de modificación genética en el proceso para suprimir la recombinación meiótica natural en el genoma de la planta. Después de obtener las plantas intermedias deseadas, se seleccionan las plantas parentales sin los eventos transgénicos. Las plantas intermedias que contienen transgenes deben clasificarse como OMG, pero no así los productos finales.



Biología Sintética

Implica la síntesis de moléculas de ADN que luego se transfieren a un receptor. El producto de esta técnica debe considerarse un OMG.

Madrid, 20 de noviembre de 2015