

RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE PLANTAS SUPERIORES MODIFICADAS GENÉTICAMENTE (ANGIOSPERMAS Y GIMNOSPERMAS)

A. Información de carácter general

1. Detalles de la notificación

a) Numero de notificación: B/ES/15/05
b) Fecha de acuse de recibo de la notificación: 05/05/2015
c) Título del proyecto: Evaluación de una línea transgénica de maíz Bt (Cry1Ac, Cry1C y Vip3) y su cruce con Carolight (CaroBt).
d) Período propuesto para la liberación: Del 15 Mayo – 31 Diciembre 2015

2. Notificador

(a) Nombre de la institución o empresa: Universidad de Lleida
--

3. *¿Tiene previsto el mismo notificador la liberación de esa misma PSMG en algún otro lugar dentro o fuera la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?*

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>

4. *¿Ha notificado el mismo notificador la liberación de esa misma PSMG en algún otro lugar dentro o fuera de la Comunidad?*

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>

B. Información sobre la planta modificada genéticamente

1. Identidad de la planta receptor o parental.

a) Familia: Gramineae
b) Género: Zea
c) Especie: mays
d) Subespecie (si procede):
Cultivar/línea de reproducción (si procede): M37W
e) Nombre vulgar: maíz

2. Descripción de los rasgos y características que se han introducido o modificado, incluidos los genes marcadores y las modificaciones anteriores.

La línea transgénica regenerada Carolight que acumula 169-veces la cantidad normal de β -caroteno, 6-veces la cantidad normal de ascorbato y el doble de la cantidad normal de ácido fólico **no esta protegida contra el taladro**. El maíz es atacado por la plaga del taladro que causa daños tanto en el tallo como en la mazorca del maíz, por lo que hemos generado una planta transgénica (**L-Bt-4**) que contienen 3 genes derivados de la bacteria *Bacillus thuringiensis* con actividad insecticida. Estos genes son Cry1Ac, Cry1C y Vip3 (descritos en detalle en apartados posteriores). Esta línea L-Bt-4 ha sido cruzada con la línea de maíz **Carolight**. Así hemos obtenido el maíz mejorado nutricionalmente y resistente a insectos **CaroBt**.

El objetivo de la presente notificación es describir cómo se realizará la **primera** liberación de la línea pura L-Bt-4 de maíz transgénica (20 plantas) y el híbrido de su cruce con la línea transgénica denominada Carolight (híbrido CaroBt, 20 plantas) con los siguientes objetivos:

- Evaluación de la línea respecto a su línea original en los siguientes aspectos
 - o caracterización agronómica
 - o efectos sobre las plagas y sobre fauna natural

3. Tipo de modificación genética.

(a) Inserción de material genético: Sí
(b) Eliminación de material genético: No
(c) Sustitución de una base: No
(d) Fusión celular: No
(e) Otro (especifíquese):

4. En caso de inserción de material genético, indique la fuente y la función prevista de cada fragmento componente de la región que se inserte.

El gen de selección *bar* y 3 cDNAs que codifican e proteínas con capacidad **insecticida**:

Gen Cry1Ac

El cDNA de *Cry1Ac* (1.8 Kb) fue clonado de *Bacillus thuringiensis* e insertado en el plásmido PAL76 (BamHI /EcoRI) que contiene el promotor constitutivo de la Ubicuitina-1 del maíz y su primer intron y el terminado nopalina sintasa.

Cry1C

El gen Cry1C de 2.856 bp que codifica para una proteína de 108-kDa fue clonado de *Bacillus thuringiensis* e insertado en el plásmido PAL76 (BamHI/HindIII) que contiene el promotor constitutivo de la Ubicuitina-1 del maíz y su primer intron y el terminado nopalina sintasa.

Vip3

Origen del cDNA y construcción

El gen *vip3Ba1* fue clonado de la cepa de *Bacillus thuringiensis* ucr8. La secuencia completa del gen *vip3Ba1* es de 2,406 be y codifica la proteína VipBa1 de 801 aminoácidos (AY823271). El cDNA fue insertado en el plasmido pAL76 (BamHI/HindIII) dirigido por el promotor constitutivo del gen de la ubiquitina del maíz y su primer intron

5. En caso de eliminación u otra modificación del material genético, indique la función de las secuencias eliminadas o modificadas.

No aplicable

6. Descripción resumida de los métodos utilizados en la modificación genética.

Transformación de maíz. Las plantas de maíz (*Zea mays* L., cv. M37W) se cultivaron en invernadero a una temperatura de 28/20 °C día/noche con un fotoperiodo de 10 h y una humedad relativa del 60–90% durante los primeros 50 días, seguido por un periodo de mantenimiento de una temperatura 21/18 °C día/noche con un consiguiente fotoperiodo de 16-h. Los embriones zigóticos inmaduros fueron extraídos a los 10–14 días después de su polinización y cultivados en medio N6 en cápsulas de Petri. Después de 5 días de incubación, los embriones fueron subcultivados a un nuevo medio N6 con una concentración osmótica muy elevada (0.2M manitol, 0.2M sorbitol), donde se mantienen 5–6 h antes del bombardeo. El bombardeo se realiza con partículas de oro recubiertas con los genes.

Regeneración de plantas. Los callos bombardeados fueron seleccionados en un medio N6 que contiene fosfinitricina. Las 75 plantas transgénicas regeneradas fueron analizadas mediante PCR para identificar los 5 genes introducidos.

Análisis moleculares. Las PCR genómicas fueron realizadas mediante la combinación de cebadores para cada gen generando secuencias específicas. Posteriormente confirmamos la expresión de los transgenes mediante transferencia de Northern, y se identificó una planta líder (planta línea L-Bt-4) que contiene y expresa los 3 transgenes.

Transgene	Forward	Reverse
<i>cry1Ac</i>	5'-GGTCAGGGTGTCTACAGAACC-3'	5'-TCGAGTGTGCAGTAACTGGAAT-3'
<i>cry1C</i>	5'-GCAGCCAACCTGCATCTCGCT-3'	5'-CTCCTGTCAATACTATAACACGTGC-3'
<i>vip3</i>	5'-AGGAATTCAGAGTTAACA-3'	5'-GTGTTAGCCTTCCAGGGCTCC-3'

Table 2. Primers used to synthesize transgene-specific probes.

Esta línea L-Bt-4 fue autopolinizada para producir semillas T1. Las generaciones T2, T3 y T4 se han obtenido a partir de la línea madre mediante autofecundaciones sucesivas.

Las semillas transgénicas de la Línea L-1 (Carolight) contienen 169 veces la cantidad normal de β -caroteno, 6 veces la cantidad normal de ácido ascórbico y doble de ácido fólico cuando se compara con la línea control M37W. Una planta homocigótica T3 fue utilizada como aceptora de polen de una línea homocigótica L-Bt-4.

7. Si la planta receptor o parental pertenece a una especie de árboles forestales, describa las vías y la extensión de la diseminación, así como los factores que afectan a esta.

No aplicable

C. Información sobre la liberación experimental

1. Finalidad de la liberación (incluida toda información pertinente disponible en esta fase) como, por ejemplo: fines agronómicos, ensayo de hibridación, capacidad de supervivencia o diseminación modificada, ensayo de los efectos en los organismos diana y en los que no lo son.

El objetivo de la presente notificación es describir cómo se realizará la **primera** liberación de la línea pura L-Bt-4 de maíz transgénica (20 plantas) y el híbrido de su cruce con la línea transgénica denominada Carolight (híbrido CaroBt, 20 plantas) con los siguientes objetivos:

- Evaluación de la línea respecto a su línea original en los siguientes aspectos
 - o caracterización agronómica
 - o efectos sobre las plagas y sobre fauna natural

2. Localización geográfica del lugar de la liberación.

Se prevén una localización en el Municipio de Lleida

3. Área del lugar (m²).

20 m² rodeado de 6 filas de maíz convencional

4. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores de esa misma PSMG, si los hubiera, específicamente relacionados con las repercusiones potenciales de su liberación en el medio ambiente y la salud.

El maíz Bt comercial en Europa contiene el evento MON 810 (Cry1Ab, YieldGard) ha sido autorizado por EFSA para pienso y comida. (http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm) por lo que no espera ningún efecto tóxico de las proteínas Cry1Ac y Cry1C.

Syngenta seeds Inc ha desarrollado variedades de maíz transgénico (MIR 162, BT11xMIR162. y BT11xMIR162xMIR604) que contiene la proteína Vip3A y que son comerciales en USA, Australia, Taiwán y Brasil (<http://www.agbios.com/dbase.php>) por lo que no se espera ningún efecto tóxico de la proteína Vip3A.

D. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de la PSMG de conformidad con el apartado D.2 del anexo II de la Directiva 2001/18/EC

Indique, en especial, si los rasgos introducidos podrían conferir directa o indirectamente una ventaja selectiva mayor en medios ambientes naturales; explique también todo beneficio ambiental significativo esperado.

- En las sucesivas generaciones de multiplicación realizadas, no se ha detectado ninguna diferencia morfológica, fisiológica ni agronómica entre las plantas transformadas y las plantas convencionales salvo en lo referente a la presencia de las 3 proteínas insecticidas incorporadas
- La modificación genética introducida en el material que se solicita liberar consiste en la incorporación de varios genes responsables de la síntesis de diferentes proteínas insecticidas con la finalidad de proteger a la planta del taladro. No se prevé ningún efecto negativo sobre la salud humana.
- La modificación genética tiene como objetivo eliminar organismos diana. No se prevé ningún efecto tóxico sobre otros organismos del ecosistema.
- Se trata de una especie originaria de Centroamérica que no tiene especies antecesoras en Europa por lo que no existen especies compatibles cultivadas o silvestres.
- Dada su condición de especie cultivada, las variedades de maíz están seleccionadas para germinar el siguiente ciclo de cultivo cuando se den las condiciones ambientales adecuadas. Su supervivencia asilvestrada es difícil por estar adaptada a las condiciones de cultivo intensivo. En nuestra zona de ensayo los granos que hayan logrado germinar después de la cosecha mueren por los fríos otoñales e invernales. No se prevé por tanto ninguna ventaja selectiva en ambientes naturales respecto a plantas no modificadas genéticamente.
- No se prevén efectos sobre los ciclos biogeoquímicos ya que las proteínas insecticidas incorporadas se degradan de la misma manera que la mayoría de moléculas orgánicas.

E. Descripción resumida de todas las medidas tomadas por el notificador para controlar el riesgo, incluido el aislamiento para limitar la dispersión, como, por ejemplo, propuesta de seguimiento incluido el seguimiento después de la cosecha.

Existe una larga experiencia de cultivo y evaluación de maíz transgénico en Europa que ha permitido al Panel de OMG de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria afirmar que el maíz transgénico cultivado es tan seguro como el maíz convencional respecto a efectos potenciales directos sobre la salud humana o animal y sobre el medio ambiente.

En el caso del maíz transgénico con 3 proteínas insecticidas de este informe, el riesgo es equivalente al del maíz Bt autorizado en Europa. No obstante se tomarán las siguientes medidas de seguridad:

- La parcela se localizará en una zona urbana donde no se cultiva maíz.
- La parcela de multiplicación del maíz transgénico se rodeará de una franja de al menos 6 líneas de una variedad convencional autorizada para disminuir la cantidad de polen liberado fuera de la zona de cultivo.
- El grano cosechado del maíz del borde será destruido y enterrado.
- El grano cosechado del maíz transgénico L1 se manipulará, transportará y conservará en envases cerrados por personal cualificado.
- Los equipos empleados (sembradora y desgranadora) serán convenientemente limpiados en el lugar de ensayo. El maíz se cosechará a mano. Se ha aportado un protocolo para la limpieza de la maquinaria juntamente con la documentación del informe de liberación B/ES/14/04.
- Las plantas de la variedad transgénica y de la variedad del borde serán trituradas con grada de discos y enterradas en el suelo.
- Después de haber cosechado el maíz de la parcela, se repasará la parcela y se recogerán a mano las

posibles mazorcas que se hayan podido caer en el suelo para evitar el posible rizio (germinación de las semillas de las mazorcas). Además, se controlara manualmente (con azada o herbicida) el posible rizio que pueda aparecer en otoño o a finales de invierno.

- El ensayo será revisado periódicamente para registrar cualquier información relacionada con algún efecto adverso para el medio ambiente y la seguridad alimentaria que será notificada a la autoridad competente.

- Al final del ensayo se enviará un informe a la autoridad competente.

F. Resumen de los ensayos de campo previstos para obtener nuevos datos sobre las repercusiones de la liberación en el medio ambiente y la salud humana (si procede)

No aplicable