



OXITEC

MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN INTENCIONAL DE UN OMG

PREPARADO PARA LA LIBERACIÓN DE LA MOSCA DEL OLIVO OX3097D-BOL SEGÚN EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE

Oxitec Limited

Oxitec Limited, 71 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4RX

T +44(0)1235832393 F +44(0)1235861138 E info@oxitec.com www.oxitec.com

Registered office 2nd Floor Park Gate, 25 Milton Park, Oxford OX14 4SH

Registered number 4512301

Índice

A.	Información General	3
B.	Información relativa al receptor u organismos parentales de los que se derivó el OMG	5
C.	Información relativa a la modificación genética.....	11
D.	Información sobre el(los) organismo(s) de los que se derivó el inserto (Donante) ..	14
E.	Información relativa con el OMG.....	16
F.	Información relativa a la liberación	18
G.	Interacciones del OMG con el medio ambiente e impacto medioambiental potencial, si es significativamente diferente del recipiente u organismo parental...	20
H.	Información relativa a los controles	24
I.	Información sobre post-liberación y tratamiento de residuos.....	25
J.	Información sobre planes de acción en caso de emergencia	26
	Bibliografía:	28

MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN INTENCIONAL DE UN OMG

De acuerdo con el Artículo 11 de la Directiva 2001/18/EC

A. INFORMACIÓN GENERAL

1. Detalles de la notificación

a) Estado Miembro de la notificación: España
b) Número de la notificación:
c) Fecha del recibo de la notificación:
d) Título del proyecto: Evaluación de la competitividad de apareamiento, longevidad y persistencia de la mosca del olivo OX3097D-Bol en campo.
e) Periodo of liberación propuesto: Mes De Julio 2015 – Mes De Julio 2016

2. Notificante

Nombre de la institución o compañía: Oxitec Ltd. 71 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4RX UK (Reino Unido) tel. +44 (0) 1235 832 393

3. Características del OMG

a) Indicar si el OMG es un(a):
Viroide <input type="checkbox"/>
virus ARN <input type="checkbox"/>
virus ADN <input type="checkbox"/>
bacteria <input type="checkbox"/>
hongo <input type="checkbox"/>
animal <input type="checkbox"/>
-mamífero <input type="checkbox"/>
-insecto <input checked="" type="checkbox"/>
-peze <input type="checkbox"/>
-otro animal <input type="checkbox"/>
especificar filo, clase; otros, especificar (reino, filo y clase)

b) Identidad del OGM (género y especie):

Bactrocera (Dacus) oleae

c) Estabilidad genética – según el Anexo IIIa, II, A(10)

Se desarrolló la cepa de la mosca del olivo OX3097D-Bol hace más de 5 años (lo que equivale a unas 75 generaciones). Desde el momento del evento de inserción, la cepa se ha mantenido de manera continua en los laboratorios de Oxitec Ltd. sin signos de inestabilidad en el rasgo genético (la estabilidad ha sido evaluada mediante estudios morfológicos, análisis por PCR utilizando las secuencias flanqueantes conocidas y mediante evaluación del rasgo de sexado genético condicional, mediante cría sin el antídoto dietético).

4. ¿Se ha planeado la liberación del mismo OGM en otro lugar de la Comunidad [en conformidad con el Artículo 6 (1)], para el mismo notificante?

Sí

No

En caso afirmativo, insertar el código del país:

5. ¿Se ha notificado la posibilidad de liberación del mismo OGM en otro lugar de la Comunidad para el mismo notificante?

Sí

No

En caso afirmativo:

-Estado Miembro de la notificación

-Número de notificación

6. ¿Se ha notificado la posibilidad de liberación del mismo OGM o su puesta en el mercado fuera de la Comunidad para el mismo u otro notificante?

Sí

No

En caso afirmativo:

- Estado Miembro de la notificación

- Número de notificación

7. Resumen del impacto potencial en el medio ambiente de la liberación de los OMGs

Los rasgos introducidos son o bien neutrales (marcador fluorescente) o bien confieren una desventaja selectiva (sexado genético condicional) a la mosca del olivo. La mosca del olivo no intercambia gametos con otras especies y exhibe comportamientos de apareamiento que impiden cruzamientos con otras especies. Se prevé que las interacciones entre la cepa OX3097D-Bol y organismos no diana serán equivalentes a los de la mosca del olivo tipo silvestre dado que las pruebas de laboratorio en dos especies de depredadores y una especie de parasitoide no indicaron ningún efecto adverso. La característica de especificidad de especie del rasgo de sexado genético condicional insertado (debido al requerimiento para el apareamiento) significa que hay potencialmente efectos beneficiosos en organismos no-diana en comparación con el uso de insecticidas químicos usados para su control. La mosca del olivo es monófaga y sólo es plaga para el olivo. El diseño experimental usa parcelas cerradas con redes, es de duración limitada y se llevarán a cabo controles tras el ensayo. No hay cambios a corto plazo en el terreno o en su modo de utilización, con la excepción del uso de redes. Se considera insignificante el impacto medioambiental potencial dadas las condiciones de uso en el ensayo.

B. INFORMACIÓN RELATIVA AL RECEPTOR U ORGANISMOS PARENTALES DE LOS QUE SE DERIVÓ EL OMG

1. Características del receptor u organismo parental:

a) Indicar si el receptor u organismo madre es un(a):

- | | |
|-------------|-------------------------------------|
| Viroide | <input type="checkbox"/> |
| virus ARN | <input type="checkbox"/> |
| virus ADN | <input type="checkbox"/> |
| bacteria | <input type="checkbox"/> |
| hongo | <input type="checkbox"/> |
| animal | <input type="checkbox"/> |
| mamífero | <input type="checkbox"/> |
| insecto | <input checked="" type="checkbox"/> |
| pez | <input type="checkbox"/> |
| otro animal | <input type="checkbox"/> |

(especificar filo, clase)

otros, especificar

2. Nombre

(i) Orden y/o taxón más alto(para animales) Díptera
(ii) Género Bactrocera
(iii) Especie <i>Bactrocera (Dacus) oleae</i>
(iv) Cepa OX3097D-Bol (nombre de Oxitec)
(v) patovar (biotipo, ecotipo, cepa, etc.) Las líneas parentales se originaron en Grecia y se han cruzado con líneas adicionales de la cuenca Mediterránea.
(vi) nombre común Mosca del olivo

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono de, o establecido en, el país donde se hace la notificación: Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Se desconoce <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de, o establecido en, otros países de la CE: (i) Sí <input checked="" type="checkbox"/> En caso afirmativo, indicar el tipo de ecosistema donde se encuentra: Atlántico <input type="checkbox"/> Mediterráneo <input checked="" type="checkbox"/> Ártico <input type="checkbox"/> Alpino <input type="checkbox"/> Continental <input type="checkbox"/> (ii) No <input type="checkbox"/> (iii) Se desconoce <input type="checkbox"/>
c) ¿Se usa con frecuencia en el país donde se hace la notificación? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/>
d) ¿Se mantiene con frecuencia en el país donde se hace la notificación? Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>

4. Hábitat natural del organismo

(a) Si el organismo es un microorganismo Agua <input type="checkbox"/> suelo, de vida libre <input type="checkbox"/> suelo en asociación con raíces de plantas <input type="checkbox"/> en asociación con tallos/hojas de plantas <input type="checkbox"/> en asociación con animales <input type="checkbox"/> otros (especificar)
(b) Si el organismo es un animal: hábitat natural o agroecosistema usual: Plantaciones de olivo, plantas de olivo silvestres

5. a) Técnicas de detección

Se puede detectar la mosca del olivo OX3097D-Bol debido a la presencia del gen marcador fluorescente *DsRed2* con las -ondas de excitación y emisión adecuadas usando un estereomicroscopio (p.e Leica MZFLIII u Olympus SZX12). También se puede identificar el insecto mediante técnicas de biología molecular.

5. b) Técnicas de identificación

Ver 5a).

6. ¿Está el organismo receptor clasificado bajo las reglas comunitarias existentes relacionadas con la protección de la salud humana y/o el medio ambiente?

Sí

No

En caso afirmativo, especificar

7. ¿Es el organismo receptor significativamente patogénico o dañino de cualquier modo (incluyendo sus productos extracelulares), tanto vivo como muerto?

Sí

No

Se desconoce

En caso afirmativo:

a) ¿a cuál de los siguientes organismos?:

humanos

animales

plantas

otros

b) Presentar la información relevante especificada en el Anexo III A, punto II. (A)(11)(d) de la Directiva 2001/18/CE

La mosca del olivo OX3097D-Bol no tiene actividad patogénica.

La proteína tTAV que confiere el rasgo de sexado genético condicional ha sido evaluada en un estudio encargado por Oxitec Ltd. donde su secuencia fue comparada con secuencias tóxicas y alergénicas conocidas y se encontró que no codifica secuencias homólogas a ninguna toxina o alérgeno (REG-OX513A 2013).

La proteína DsRed2 que confiere el rasgo marcador fluorescente ha sido examinada en un estudio encargado por Oxitec Ltd. donde su secuencia se comparó con secuencias tóxicas y alergénicas conocidas y no se encontró que codificara ninguna secuencia homóloga a una toxina o alérgeno (REG-OX513A 2013).

No se prevé que los rasgos genéticos insertados confieran a la mosca del olivo capacidad alguna para colonizar otras plantas huéspedes. No se ha observado comportamiento anormal en la mosca del olivo durante sus 5 años de desarrollo en el laboratorio, a través de la evaluación de su comportamiento en pruebas en jaula en un medio ambiente seminatural y durante su cría masiva.

8. Información relacionada con la reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

El tiempo de generación es dependiente de la temperatura y a 25°C es aproximadamente de 30 días.

b) Tiempo de generación en el ecosistema donde tendrá lugar la liberación:

Ver arriba. Se efectuarán las liberaciones en el ecosistema natural de la mosca del olivo.

c) Modo de reproducción: Sexual Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción:

Temperatura, fotoperiodo, humedad y presencia de plantas huéspedes (olivos) y presencia de mosca del olivo.

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que mejoran la supervivencia o la dormancia:

- (i) endosporas
- (ii) quistes
- (iii) esclerocios
- (iv) esporas asexuales (hongos)
- (v) esporas sexuales (hongos)
- (vi) huevos
- (vii) pupas
- (viii) larvas
- (ix) otros, especificar

Las moscas del olivo adultas son capaces de entrar en diapausa sexual donde las moscas del olivo adultas pueden sobrevivir sin reproducirse hasta 5 meses. Esto no se ha observado en la línea desarrollada OX3097D-Bol hasta la fecha.

b) Factores relevantes que afectan la supervivencia:

La mosca del olivo depende completamente de la planta huésped, dado que se necesitan las aceitunas como lugares para poner huevos y para el desarrollo de las larvas. El clima en el lugar de liberación puede afectar la supervivencia de la mosca del olivo siendo óptimas temperaturas entre 20-30°C . Un alto nivel de humedad o irrigación del lugar de liberación también pueden ocasionar un incremento en la supervivencia de los adultos ya que éstos necesitan una fuente de agua.

10. a) Modos de diseminación

La diseminación es mediante vuelo de adultos o movimiento de fruta infestada.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

Los factores que afectan a la diseminación de la mosca del olivo adulta incluyen la presencia de la planta huésped y la presencia de otras moscas del olivo. Los factores que afectan otras etapas del ciclo de vida incluyen el movimiento de fruta y las condiciones climáticas.

11. Modificaciones genéticas previas del receptor u organismo parental aprobadas para su liberación en el país donde se hace la notificación (dar números de notificación)

Ninguna

C. INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Tipo de modificación genética

(i) Inserción de material genético	<input checked="" type="checkbox"/>
(ii) Eliminación de material genético	<input type="checkbox"/>
(iii) Sustitución de base	<input type="checkbox"/>
(iv) Fusión de células	<input type="checkbox"/>
(v) Otros, especificar	

2. Resultado previsto de la modificación genética

Sexado genético condicional: Este rasgo introducido es el gen que codifica la proteína tTAV, la cual no es tóxica pero sí es deletérea para las hembras de la mosca del olivo, ya que actúa como un bucle de retroalimentación positiva dentro del sistema genético en ausencia de tetraciclina. Su modo de acción supuestamente se debe a la expresión excesiva de tTAV que reprime la actividad celular normal. La construcción genética OX3097 se ha diseñado para que presente un splicing alternativo específico de cada sexo del insecto para crear un sistema de sexado genético específico para hembras, lo cual significa que solo las hembras serán eliminadas y que tTAV puede ser heredada y transmitida por las moscas del olivo macho, los cuales no resultan afectados.

Marcador fluorescente: Se ha insertado un marcador fluorescente en la mosca del olivo OX3097D-Bol. La expresión del gen *DsRed2* permite que la mosca del olivo tenga un fenotipo fluorescente cuando es excitada por iluminaciones a una longitud de onda específica. La proteína DsRed2 expresada facilita la detección de la mosca del olivo OX3097D-Bol en el laboratorio y en el campo.

3. a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, ir directamente a la pregunta 5.	

3. b) En caso afirmativo, ¿está el vector completa o parcialmente presente en el organismo modificado?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, ir directamente a la pregunta 5.	

4. Si la respuesta a 3 b) es sí, completar la información a continuación

<p>a) Tipo de vector</p> <p>plásmido <input type="checkbox"/></p> <p>bacteriófago <input type="checkbox"/></p> <p>virus <input type="checkbox"/></p> <p>cósmido <input type="checkbox"/></p> <p>elemento transponible <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>otros, especificar</p>
<p>b) Identidad del vector</p> <p><i>piggyBac</i> elemento transponible de la polilla de la Col (<i>Trichoplusia ni</i>)</p>
<p>c) Especificidad de huésped del vector</p> <p>Se puede usar <i>piggyBac</i> para transformar una gama de especies, especialmente insectos. Sólo se han aislado elementos <i>piggyBac</i> funcionales en <i>Trichoplusia ni</i> (Handler 2002).</p>
<p>d) Presencia en el vector de secuencias que dan un fenotipo seleccionable o identificable</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>Resistencia a antibióticos <input type="checkbox"/></p> <p>Otros, especificar: rasgo de sexado genético condicional (tTAV), marcador fluorescente (DsRed2)</p> <p>Indicación de qué gen resistente a antibióticos está insertado</p> <p>No se usa un gen de resistencia a antibióticos en la modificación</p>
<p>e) Fragmentos constituyentes del vector</p> <p><i>piggyBac</i>, rasgo de sexado genético condicional (tTAV) y el marcador fluorescente (DsRed2).</p>
<p>f) Método de introducción del vector en el organismo receptor</p> <p>(i) transformación <input type="checkbox"/></p> <p>(ii) electroporación <input type="checkbox"/></p> <p>(iii) macroinyección <input type="checkbox"/></p> <p>(iv) microinyección <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>(v) infección <input type="checkbox"/></p>

(vi) otros, especificar

5. Si la respuesta a las preguntas B.3 (a) y (b) fue no, ¿cuál fue el método usado en el proceso de modificación?

- (i) transformación
- (ii) microinyección
- (iii) microencapsulación
- (iv) macroinyección
- (v) otros, especificar

6. Información sobre el inserto

a) Composición del inserto: b) Fuente de cada parte constituyente del inserto: c) Función prevista de cada parte constituyente del inserto en el OMG

Nls: DNA sintético; localización nuclear de la proteína DsRed2 en el interior del núcleo de las células

DsRed2: *Discosoma Sp* (Coral): Expresión de una proteína fluorescente que actúa como marcador

Intron: *Drosophila melanogaster*: Estabiliza el mRNA y es necesario para la traducción del mRNA

TetOx14/TetOx7: Sintético: Región activadora para controlar la expresión génica

Tra intron: *Ceratitidis capitata*: Da especificidad a hembras

tetR/tTAV: Secuencia sintética basada en el dominio de *E. coli*/virus Herpes simple: rasgo de sexado genético condicional

VP16: Virus Herpes simple: Componente del factor transcripcional sintético tTAV

d) Localización del inserto en el organismo huésped

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma
- otros, especificar

e) ¿Contiene el inserto partes cuyo producto o función se desconocen?

Sí No

En caso afirmativo, especificar

D. INFORMACIÓN SOBRE EL(LOS) ORGANISMO(S) DE LOS QUE SE DERIVÓ EL INSERTO (DONANTE)

Taxonomía de los Organismos Donantes	Patogenicidad de los organismos donantes	¿Están las secuencias donadas involucradas de alguna manera con las propiedades patogénicas o dañinas del organismo?	¿Está el organismo donante clasificado bajo las normas comunitarias existentes relacionadas con la protección de la salud humana y el medio ambiente, como la Directiva 90/679/Eec sobre la protección de los trabajadores frente a riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos en el trabajo?	¿Intercambian el organismo donante y el organismo receptor material genético de forma natural?
Discosoma spp. Anthozoa, Hexacorallia, Corallimorpharia	Discosoma spp. no se conoce que sea patogénico	No	No	No
Drosophila Melanogaster Insecto, Diptera,	<i>Drosophila melanogaster</i> no se conoce que sea patogénico	No	No	No

Escherichia Coli Bacteria, Proteobacteria, Enterobacteriales,	Se obtuvo el organismo donante de una cepa de laboratorio no patogénica.	No	No se clasifican cepas no patogénicas de <i>E. coli</i> en la clasificación de la Comunidad Económica Europea para la protección de trabajadores frente a agentes biológicos (Directiva 2000/54/CE).	No
Herpes Simple Virus Tipo 1 Virus ADN, Grupo 1 (dsDNA) Virus, Simplexvirus,	El herpes es un patógeno conocido	No	Se clasifica el virus Herpes simplex tipo 1 como agente biológico del grupo 2 en la clasificación de la Comunidad Económica Europea para la protección de trabajadores frente a agentes biológicos (Directiva 2000/54/CE).	No
Trichoplusia ni Insecto, Lepidóptera, Noctuidae Polilla de la Col	La polilla de la Col no es un patógeno conocido	No	No	No
Ceratitis capitata Insecto, Díptera, Tephritidae Mosca Mediterránea	La mosca del Mediterráneo es una plaga invasiva de plantas pero no es patogénica	No	No	No

E. INFORMACIÓN RELATIVA CON EL OMG

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del receptor u organismo parental que han cambiado como resultado de la modificación genética

a) ¿Es el OMG diferente del receptor en lo que concierne a la *capacidad de supervivencia*?

Sí No Se desconoce

Especificar:

La modificación codifica un rasgo de sexado genético condicional.

b) ¿Es el OMG diferente del receptor en lo que concierne al modo y/o tasa de *reproducción*?

Sí No Se desconoce

Especificar:

No se han alterado el modo y la tasa de reproducción; sin embargo, el efecto propuesto de la modificación es el de conferir una fuerte desventaja selectiva en las hembras en ausencia de tetraciclina.

c) ¿Es el OMG diferente del receptor en lo que concierne a la *diseminación*?

Sí No Se desconoce

Especificar

d) ¿Es el OMG diferente del receptor en lo que concierne a la *patogenicidad*?

Sí No Se desconoce

Especificar

2. Estabilidad genética del organismo genéticamente modificado

Se desarrolló la línea de la mosca del olivo OX3097D-Bol hace más de 5 años (lo que equivale a unas 75 generaciones). Desde la transformación la cepa se ha mantenido de manera continua en los laboratorios de Oxitec Ltd. sin signos de inestabilidad en el rasgo genético (la estabilidad ha sido evaluada mediante estudios fenotípicos, análisis usando técnicas moleculares y mediante la evaluación del rasgo de sexado genético condicional, en cría sin el antídoto dietético).

3. ¿Es el OMG significativamente patogénico o dañino de alguna manera (incluyendo sus productos extracelulares), tanto vivo como muerto?

Sí No Se desconoce

En caso afirmativo,

a) ¿a cuál de los siguientes organismos?:

humanos	<input type="checkbox"/>
animales	<input type="checkbox"/>
plantas	<input type="checkbox"/>
otros	<input type="checkbox"/>

b) dar la información apropiada especificada bajo el Anexo III A, punto II (A) (11) (d) y II (C) (2) (i)

La mosca del olivo OX3097D-Bol no tiene actividad patogénica.

La proteína tTAV que confiere el rasgo de sexado genético condicional ha sido evaluada en un estudio encargado por Oxitec Ltd. donde su secuencia se comparó con secuencias tóxicas y alergénicas conocidas y no se encontró que codificara ninguna secuencia homóloga a una toxina o alérgeno (REG-OX513A 2013).

La proteína DsRed2 que confiere el rasgo marcador fluorescente ha sido revisada en un estudio encargado por Oxitec Ltd. donde su secuencia se comparó con secuencias tóxicas y alergénicas conocidas y no se encontró que codificara ninguna secuencia homóloga a una toxina o alérgeno (REG-OX513A 2013).

Cuando se evaluó en dos especies de insectos depredadores y uno de parasitoides, no se observaron efectos adversos sobre la supervivencia.

No se prevé que los rasgos genéticos insertados confieran a la mosca del olivo habilidad alguna para colonizar otras plantas huéspedes.

No se ha observado comportamiento anormal en la mosca del olivo durante sus 5 años de desarrollo en el laboratorio ni en pruebas en jaula en un medio ambiente seminatural.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas usadas para detectar el OMG en el medio ambiente

Se usarán técnicas estándar de captura de moscas tales como las trampas McPhail o trampas adhesivas amarillas para detectar las moscas del olivo liberadas así como la recogida de fruta infestada para evaluar en la progenie emergente la presencia de los rasgos genéticos.

b) Técnicas usadas para identificar el OMG

Se puede detectar la mosca del olivo OX3097D-Bol con el marcador fluorescente *DsRed2* mediante ondas de excitación y emisión adecuadas. También se pueden usar técnicas de PCR para identificar el insecto.

F. INFORMACIÓN RELATIVA A LA LIBERACIÓN

1. Propósito de la liberación (incluyendo cualquier beneficio potencial significativo para el medio ambiente que pueda esperarse)

Los objetivos principales de este estudio son:

- Establecer el rendimiento de moscas del olivo OX3097D-Bol cuando compiten con machos silvestres por las hembras silvestres
- Recoger información sobre la longevidad de la mosca del olivo OX3097D-Bol en un medio ambiente de campo
- Evaluar diferentes métodos de liberación

2. ¿Es el lugar de liberación diferente del hábitat natural o del ecosistema en el que el recipiente u organismo parental se use, se mantenga o se encuentre de forma regular?

Sí

No

En caso afirmativo, especificar

3. Información relacionada con la liberación y el área circundante

a) Localidad geográfica (región administrativa y donde proceda malla de referencia):

Tarragona

b) Tamaño del lugar (m²): El área total de liberación será menor de 1000m²

(i) lugar real de liberación (m²): El lugar de liberación total se dividirá en 6 lugares pequeños de tratamiento haciendo un total de menos de 1000m².

(ii) área de liberación más amplia (m²): Las liberaciones tendrán lugar solamente dentro de las áreas con redes.

c) Proximidad a biotopos internacionalmente reconocidos o zonas protegidas (incluyendo embalses de agua potable), que se podrían ver afectadas:

El lugar de liberación está a unos 8 km del puerto de Tarragona. En Cataluña hay un Parque Nacional, Aigüestortes i Estany de Sant Maurici que se encuentra a 157 km del lugar de liberación.

d) Flora y fauna incluyendo cultivos, ganado y especies migratorias que potencialmente podrían asociarse con el OMG

Las liberaciones se realizarán en tierras de uso agrícola intensivo donde no habrá ganado pastando. La mayoría de los cultivos agrícolas en la zona son árboles de olivo y avellanos pero también hay almendros, nogales, algarrobos, pistachos, higueras, manzanos, perales, melocotoneros y viñedos. Habrá otros insectos dentro del lugar cerrado con redes que pudieran ser depredadores o parasitoides de la mosca del olivo presente en el lugar de liberación. Aunque el herbaje del sotobosque está controlado con herbicida en el área de liberación, existe la posibilidad de que crezcan especies de plantas desconocidas a lo largo de la etapa de liberación. La presencia de una variedad de especies insectívoras es probable en el área de liberación y, aunque es probable que el montaje de las redes ahuyente muchos de los animales más grandes todavía podrían quedar reptiles, mamíferos pequeños y pájaros en el área de liberación.

4. Método y cantidad de liberaciones

a) Cantidades de OMGs para liberar:

Se usará una proporción de liberación de aproximadamente 1:1 de moscas del olivo OX3097D-Bol machos a moscas machos salvajes durante todo el experimento. Sin embargo, podría ser necesaria una adaptación de la proporción de liberación a lo largo del experimento y se incorporará un grado de flexibilidad en el diseño del experimento. El número total de moscas del olivo OX3097D-Bol machos liberados por semana no excederá de 5000.

b) Duración de la operación:

La mosca del olivo es estacional y se aparece tanto en la primavera (febrero-mayo) como en el otoño (septiembre-diciembre), la elección del momento oportuno para el ensayo se basará en estas estacionalidades y, por lo tanto, si no se inicia hasta el período de otoño, el periodo de duración será de hasta 12 meses a partir de ese momento. Las liberaciones en las parcelas rodeadas de redes se harán una o dos veces por semana durante un periodo mínimo de 8 semanas.

c) Métodos y procedimientos para evitar y/ o minimizar la propagación de los OMGs más allá del área de liberación:

El área de liberación estará cerrado con redes. El trapeo es un componente esencial de las liberaciones de insectos y se desplegarán trampas antes, durante y después de la liberación tanto dentro como fuera de las redes.

5. Breve descripción de las condiciones medioambientales típicas (clima, temperatura, etc.)

La temperatura media en Cataluña varía desde mínimas de (4°C en enero, 16°C agosto) a máximas de (13°C enero, 28°C agosto). La precipitación (lluvia) media es menor en julio con 20mm y mayor en octubre con 91 mm. Las horas de sol por semana se sitúan entre 138h a lo largo de diciembre a 310h en julio.

6. Datos pertinentes relacionados con liberaciones previas llevadas a cabo con el mismo OMG, si las hay, particularmente relacionadas con los impactos potenciales de la liberación al medio ambiente y a la salud humana

Se han llevado a cabo ensayos en jaulas y análisis del ciclo de vida para establecer la competitividad de apareamiento de la mosca del olivo Ox3097D-Bol (Ant, Koukidou et al. 2012). Ensayos en jaula adicionales han mostrado la evidencia del principio de que la mosca del olivo OX3097D-Bol es capaz de eliminar una población enjaulada de moscas del olivo tipo silvestre bajo condiciones seminaturales.

G. INTERACCIONES DEL OMG CON EL MEDIO AMBIENTE E IMPACTO MEDIOAMBIENTAL POTENCIAL, SI ES SIGNIFICANTEMENTE DIFERENTE DEL RECIPIENTE U ORGANISMO PARENTAL

1. Nombre de los organismos objetivo (si procede)

orden y/o taxón más alto (para animales)

Díptera

género

Bactrocera

especie

Bactrocera (Dacus) oleae

Nombre común

Mosca del olivo

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMGs liberados y el organismo objetivo (si procede)

Se prevé que las moscas del olivo machos OX3097D-Bol se aparearán con moscas del olivo hembras silvestres en el área de liberación. Todas las hembras de la progenie de tal cruzamiento no sobrevivirán hasta la edad adulta dado que hay una carencia del suplemento dietético necesario para suprimir el rasgo de sexado genético en el medio de liberación. Los machos procedentes de dichos cruzamientos no vivirán más allá de su propio corto ciclo de vida.

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

No se prevén interacciones significativas. La modificación está limitada a la mosca del olivo por barreras reproductivas. En el caso de que la mosca del olivo OX3097D-Bol sea ingerida por depredadores presentes en el área de liberación no se prevé que los rasgos genéticos insertados tengan ningún efecto tóxico (Richards, Han et al. 2003; Pavely y Fedorova 2006)

4. ¿Es probable que ocurra una selección post-liberación como un aumento en la competitividad y en la invasividad en el OMG?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	Se desconoce <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	---------------------------------------

Dar detalles: el rasgo introducido confiere una desventaja selectiva

5. Tipos de ecosistemas a los que el OMG podría diseminarse a partir del área de liberación y en los que podría establecerse

La mosca del olivo es un especie monófaga que vive solo en árboles de olivo. Es probable que cualquier diseminación del lugar de liberación diera lugar a que entraran moscas en otros medios agrícolas cultivados que contienen árboles de olivo. Se prevé que la presencia de las redes impedirá el movimiento de la mosca del olivo; sin embargo, si la mosca del olivo OX3097D-Bol se desplaza del área de liberación, la presencia del rasgo de sexado genético condicional impediría que la mosca se establezca en el medio ambiente. No es probable que los servicios del ecosistema se vean afectados por la presencia de la mosca del olivo OX3097D-Bol. Las moscas del olivo no son conocidas como especie polinizadora.

6. Nombre completo de los organismos no-diana que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pudieran ser significativamente dañados de modo no intencional por la liberación del OMG

No se prevé que los organismos no diana resulten dañados por la liberación del organismo genéticamente modificado. La evaluación de impacto ambiental y varios estudios con organismos no diana han determinado que habrá un riesgo mínimo a la salud de los animales asociados con la liberación de la mosca del olivo OX3097D-Bol.

7. Probabilidad de intercambio genético in vivo

a) del OGM a otros organismos en el ecosistema de la liberación:

El único intercambio genético previsto es el de las moscas del olivo machos a las moscas del olivo hembras silvestres en el área de liberación: "transmisión vertical".

b) de otros organismos al OMG:

Ninguno previsto

c) consecuencias probables de transferencia genética:

Es probable que la transferencia de genes de los machos OX3097D-Bol a las hembras silvestres dé como resultado la muerte de las hembras de la prole en el área de liberación dado que éste es el propósito del rasgo de sexado genético condicional. No se prevé que los machos procedentes de tales cruzamientos tengan una duración de su ciclo de vida alterada en comparación con la mosca del olivo tipo silvestre.

8. Dar referencias de resultados relevantes (si están disponibles) de estudios del comportamiento y características del OMG y de su impacto ecológico, llevados a cabo en medioambientes naturales simulados (p.e. microcosmos etc.):

Se han llevado a cabo análisis detallados del comportamiento durante el ciclo de vida de la mosca del olivo en los laboratorios de Oxitec Ltd. (Ant, Koukidou et al. 2012). La evaluación minuciosa de la mosca del olivo también incluyó estudios en condiciones contenidas seminaturales en colaboración con la Universidad de Creta. Estudios que evalúan la competitividad de apareamiento de la mosca del olivo OX3097D-Bol en comparación con la mosca del olivo silvestre recogidas de aceitunas infestadas encontradas en Creta indicaron que hay una alta competitividad de apareamiento entre la mosca del olivo OX3097D-Bol y la mosca del olivo silvestre. Estudios adicionales indicaron que la mosca del olivo OX3097D-Bol era capaz de producir una supresión de la población de un tipo silvestre estable en un medioambiente en cautividad. No se observaron efectos adversos durante estos estudios.

9. Posibles interacciones con procesos biogeoquímicos de importancia medioambiental (si son diferentes al receptor u organismo parental)

Se considera que la mayoría de las especies descomponedoras son generalistas que se alimentan de forma oportunista de materia orgánica presente en sus hábitats, no considerándose que un aumento de adultos machos muertos y cualquier cambio en la población total de moscas del olivo tenga un efecto perjudicial duradero en la población descomponedora.

Se han modificado genéticamente las moscas del olivo OX3097D-Bol para producir dos proteínas novedosas en relación con las moscas del olivo tipo silvestre que es probable que se descompongan en aminoácidos constituyentes en el área de liberación; no se prevé que éstos tengan un efecto diferente sobre los procesos biogeoquímicos en comparación con el organismo tipo silvestre.

H. INFORMACIÓN RELATIVA A LOS CONTROLES

1. Métodos de control de los OMGs

Se montarán trampas estándares de mosca del olivo dentro de los lugares de liberación y se observarán periódicamente para controlar la población de las moscas del olivo. Se podrán controlar las etapas inmaduras mediante muestras de fruta del olivo infestada. Se detectará la persistencia de la mosca del olivo OX3097D-Bol en el medio ambiente contando las muestras fluorescentes de moscas del olivo procedentes de las trampas.

Se colocarán trampas estándares de mosca del olivo en intervalos fuera de las redes de las áreas de liberación para controlar la presencia de moscas del olivo OX3097D-Bol en la proximidad de las áreas de liberación.

2. Métodos para controlar los efectos del ecosistema

Tras la evaluación de riesgos ninguno se ha considerado necesario

3. Métodos para detectar la transferencia de material genético donado del OMG a otros organismos

Se puede detectar la transferencia vertical de material genético en la mosca del olivo mediante pruebas para detectar la fluorescencia; el intercambio de gametos se ve limitado a la mosca del olivo por comportamientos de apareamiento. No existe información que indique que exista apareamiento entre moscas del olivo y cualquier otra mosca.

Los depredadores que ingieren las moscas del olivo OX3097D-Bol no pueden transferir ADN mediante la ingestión; se puede detectar la presencia del material genético mediante métodos moleculares.

4. Tamaño de la zona de control (m²)

Dado que el área de liberación está contenida dentro de una zona encerrada con redes no se llevarán a cabo controles más allá de los lugares de liberación y lugares de control: un área total de no más de 1000m².

5. Duración del control

El control previo a la liberación comenzará después de que se haya dado el visto bueno y antes del ensayo. Los controles continuarán a lo largo del ensayo y el control post-liberación continuará hasta que no se haya atrapado adultos fluorescentes durante un periodo de 4 semanas sucesivas.

6. Frecuencia del control

Se comprobarán las trampas semanalmente

I. INFORMACIÓN SOBRE POST-LIBERACIÓN Y TRATAMIENTO DE RESIDUOS

1. Tratamiento post-liberación del área

Tras la fase de control post-liberación del experimento no se prevé la presencia de moscas del olivo OX3097D-Bol en parcelas tratadas. Se recogerá toda la fruta restante de las parcelas y se devolverá a la instalación de eclosión. Se usará un insecticida aprobado en las parcelas tratadas para eliminar las moscas del olivo restantes. El insecticida elegido y el procedimiento de aplicación dependerán de las medidas de control vigentes implementadas en el lugar de liberación.

2. Tratamiento post-liberación de los OMGs

Se someterán a los OMGs no utilizados en los ensayos a una congelación profunda a -15°C o temperaturas inferiores durante 12 horas y se desecharán según los procedimientos habituales en la instalación de investigación donde se producirá la eclosión de la mosca del olivo.

3. a) Tipo y cantidad de residuos generados

Dieta adulta, residuos de mosca y desechos de eclosión – hasta 5 kg

3. b) Tratamiento de residuos

Los materiales de eclosión y liberación utilizados en la instalación de eclosión serán sometidos a congelación a -15°C o temperaturas inferiores durante 12 horas antes de su eliminación por las vías habituales de residuos según esté especificado en la instalación de eclosión.

J. INFORMACIÓN SOBRE PLANES DE ACCIÓN EN CASO DE EMERGENCIA

1. Métodos y procedimientos para el control de la diseminación de los OMGs en caso de propagación imprevista

Las liberaciones propuestas ocurren dentro de una zona cerrada con redes y los insectos se transportarán al área de liberación mediante un sistema de doble contención. En el caso de que algunas moscas del olivo OX3097D-Bol se escapen durante el transporte no serán capaces de establecerse en el medio ambiente debido a la presencia del rasgo de sexado genético condicional. Se puede tratar cualquier liberación a gran escala no prevista con un insecticida aprobado.

En el caso de que se detecte la mosca del olivo OX3097D-Bol en las trampas colocadas fuera del área de liberación, la mosca del olivo contiene un rasgo de sexado genético condicional que impedirá que las moscas se establezcan en el medio ambiente. Cualquier persistencia inesperada de la mosca del olivo OX3097D-Bol será controlada con insecticidas aprobados; se prevé que las moscas del olivo liberadas serán susceptibles a los insecticidas dado que no presentan mutaciones genéticas asociadas con la resistencia a insecticidas.

2. Métodos para la eliminación de los OMGs de las zonas potencialmente afectadas

La mosca del olivo OX3097D-Bol contiene un rasgo de sexado genético condicional que limitará su persistencia en el medio ambiente de liberación.

Se controlará el lugar de liberación hasta 4 semanas después de la liberación y se prevé que en ese periodo de tiempo las poblaciones de mosca del olivo se habrán reducido. Cualquier persistencia inesperada de la mosca del olivo será detectada mediante este control y, si fuera necesario, se usarán insecticidas aprobados para eliminar las moscas del olivo restantes.

3. Métodos para la eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran estar expuestas durante o después de la propagación

No se prevén medidas especiales.

Se prevé que las moscas del olivo liberadas que permanezcan en el medio ambiente se descompondrán en el medio ambiente convirtiéndose en componentes no tóxicos así como lo hacen otros insectos en el área de liberación.

Se evaluarán las larvas que emergen de aceitunas infestadas recogidas durante el ensayo para detectar la fluorescencia y poder evaluar la competitividad de apareamiento de las moscas del olivo machos OX3097D-Bol. A continuación, estas aceitunas serán sometidas a congelación a -15°C y eliminadas mediante las vías habituales de eliminación de residuos.

4. Planes para la protección de la salud humana y el medio ambiente en el caso de un efecto indeseado

Se ha mantenido y utilizado la mosca del olivo en los laboratorios en Oxitec Ltd. durante más de 5 años (aproximadamente 75 generaciones) sin percibir efectos indeseados en los trabajadores del laboratorio. No se prevé la necesidad de tomar acciones para proteger la salud humana o del medio ambiente durante la liberación; sin embargo, en caso de que surgieran problemas imprevistos durante la prueba, se pararán las liberaciones y, si fuera necesario, la población restante de la mosca del olivo será eliminada usando un insecticida aprobado.

BIBLIOGRAFÍA:

Ant, T., M. Koukidou, et al. (2012). "Control of the Olive fruit fly using genetics-enhanced Sterile Insect Technique." *BMC Biology* **10**: 51.

Handler, A. (2002). "Use of the *piggyBac* transposon for germ-line transformation of insects." *Insect Biochem Mol. Biol.* **32**: 1211-1220.

Pavely, C. and M. Fedorova (2006). Early Food Safety Evaluation for a Red Fluorescent Protein:DsRed2. Pioneer Hi-Bred International, Inc. , Pioneer Hi-Bred International, Inc. .

REG-OX513A (2013). Bioinformatics analysis for risks of allergenicity and toxicity of proteins encoded by the two genes introduced into genetically engineered mosquitos (*aedes aegypti*), strain OX513A for production of sterile males to reduce vector transmission of important human diseases. Oxitec study report. R. Goodman. Lincoln, USA, University of Nebraska (FARRP): 1-28.

Richards, H. A., C.-T. Han, et al. (2003). "Safety Assessment of Recombinant Green Fluorescent Protein Orally Administered to Weaned Rats." *The Journal of Nutrition* **133**: 1909-1912.