

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) Fecha de acuse de recibo de la notificación:
c) Título del proyecto: Producción de árboles transgénicos con mayor biomasa. Liberación al medio ambiente, estudios de campo, impacto ecológico y evaluación de riesgos
d) Período propuesto para la liberación: Verano 2011

2. Notificador

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

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 <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código o códigos del país:	

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"/>
En caso afirmativo, indique el número de notificación:	

B. Información sobre la planta modificada genéticamente

1. Identidad de la planta receptor o parental.

a) Familia: Salicáceas
b) Género: <i>Populus</i>
c) Especie: híbrido <i>P. tremula X P. alba</i>
d) Subespecie (si procede):
Cultivar/línea de reproducción (si procede): Clon 7171-B4 seleccionado en INRA Versailles, Francia
e) Nombre vulgar: Chopo, Álamo

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

Se ha utilizado como vector para la transformación el plásmido pBI121 derivado de pBIN19 (Bevan, M (1984) Binary *Agrobacterium* vectors for plant transformation. Nucl. Ac. Res. 12: 8711-8721), que es derivado de un plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* en el que se han eliminado los genes implicados en la síntesis de opinas.

Dado el método y vector empleado en la transformación, la región T-DNA del plásmido pBI121 que contiene el gen para la expresión de Dof 5 de pino se ha transferido al genoma del híbrido *P.tremula X P. alba*.

3. Tipo de modificación genética.

(a) Inserción de material genético:	X
(b) Eliminación de material genético:	
(c) Sustitución de una base:	
(d) Fusión celular:	
(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 quimérico contiene la secuencia de cDNA de Dof 5 aislada de *Pinus pinaster* (Rueda-López y col. Plant Journal (2008) 56: 73-85) bajo la dirección del promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor y unido al gen delator β -glucuronidasa y a una región de terminación de la transcripción del gen de la nopalina sintetasa (NOS) de *Agrobacterium tumefaciens* gen (35S-Dof5-GUS-NOS). Además del gen quimérico de Dof 5, en el plásmido también hay un gen que confiere resistencia a kanamicina para la selección de células recombinantes. Esta construcción contiene la secuencia que codifica la neomicina fosfotransferasa II (*npt-II*) de *Escherichia coli* flanqueada por el promotor 35S y la región NOS anteriormente descrita (gen 35S-*nptII*-NOS). El tamaño de ambos genes es de 3.9 kbp (35S-Dof5-GUS-NOS) y 1.7 kbp (35S-*nptII*-NOS) respectivamente.

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

--

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

Segmentos de hoja se pusieron en contacto con la solución bacteriana como se describe previamente (Gallardo et al. Planta (1999) 210 : 19-26 de esta manera la región T-DNA del plásmido pBI121 que contiene el gen para la expresión de Dof 5 de pino se ha transferido al genoma del híbrido <i>P.tremula X P. alba</i> via <i>Agrobacterium tumefaciens</i>
--

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 disponemos de información sobre el flujo de transgenes desde <i>Populus</i> a otros organismos a pesar de que este género se está empleando en otros países para la generación de árboles transgénicos.
--

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.

a) Realizar un proyecto de I+D en colaboración con la empresa ENHOL S.L., que permitirá evaluar en condiciones de campo el impacto de la modificación genética en la biología de los árboles. Se han diseñado ensayos dirigidos a comprender los efectos de la sobre-expresión del transgén en el crecimiento de los árboles, y su relación con variaciones estacionales del contenido en carbono y nitrógeno. b) Evaluación de los efectos y riesgos potenciales que el cultivo de los árboles modificados genéticamente puedan tener en el medio ambiente. Esta evaluación es preceptiva para una eventual solicitud de comercialización del producto transgénico por parte de la empresa ENHOL S.L.
--

2. Localización geográfica del lugar de la liberación.

Ubicación geográfica:

3. Área del lugar (m²).

6335 m²

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.

Estas plantas no han sido liberadas al medio ambiente con anterioridad, sin embargo, en plantas obtenidas con un método similar, utilizando el mismo clon del INRA y con las que se ha realizado un ensayo de campo de tres años que fue aprobado por la Comisión Nacional de Bioseguridad: Ministerio de Medio Ambiente (referencia B/ES/98/27), no se detectaron en ningún caso problemas en la liberación (véase el artículo de Jing y col. New Phytologist, Special Issue: *Populus* Genomics 164, 137-145).

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.

- 1) No se prevee que los rasgos introducidos puedan conferir una ventaja selectiva mayor en medios ambientes naturales
- 2) La PSMG no ha adquirido ventajas o desventajas
- 3) No disponemos de información sobre el flujo de transgenes desde *Populus* a otros organismos a pesar de que este género se está empleando en otros países para la generación de árboles transgénicos.
- 4) Dadas las características de los genes introducidos y el posible uso de los árboles en actividades comerciales (obtención de pasta para papel y de madera para diversos usos), no se prevé peligro potencial o efecto nocivo sobre la salud humana ni sobre depredadores, parasitoïdes y patógenos del entorno
- 5) No se prevee que haya interacciones adversas con el medio ambiente derivadas de la expresión del trasgén.
- 6) No se esperan efectos ni inmediatos ni diferidos sobre la salud humana derivados de la interacción directa o indirecta con las PSMG
- 7) No procede
- 8) No se prevee impacto ni directo ni indirecto en el medio ambiente debido a las técnicas de cultivo, gestión y cosecha empleadas
- 9) No se preveen efectos sobre los procesos biogeoquímicos resultantes de interacciones directas o indirectas

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.

1. Precauciones adoptadas:

a) distancia o distancias de especies vegetales compatibles sexualmente

La parcela experimental permanecerá aislada por una distancia mínima de seguridad de 10-15

metros en todos sus puntos.

b) medidas para reducir o evitar la dispersión de polen o semillas

el híbrido *P. tremula X P. alba* suele florecer entre el cuarto y el quinto año de crecimiento, no se contemplan por tanto medidas para evitar la dispersión de las semillas. Los árboles se talarán con anterioridad a la aparición de las flores. Para aislar el experimento de campo de otros cultivos de la zona se bordeará la parcela experimental con una malla conejera.

2. Descripción de los métodos de tratamiento del lugar tras la liberación

Durante la liberación se eliminarán cada 15 días las plantas herbáceas que hayan crecido en la parcela experimental mediante eliminación mecánica y en ocasiones aplicación de herbicidas en las filas de plantación. Todo el material procedente de los árboles será almacenado en bolsas para su posterior incineración. La recogida de material se realizará con anterioridad al riego de la parcela por inundación.

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

La eliminación de los fustes de los árboles después de su aprovechamiento, medición y análisis para su estudio, se astillarán y se incinerarán para su total destrucción.

La eliminación de los tocones, después del segundo corte, se realiza mediante una trituradora hasta una profundidad de 50 cm, que hace imposible su regeneración con la posterior eliminación de los residuos restantes por incineración.

La incineración de los residuos se realizará en las instalaciones de la planta deshidratadora de forrajes que el grupo Enhol tiene en la misma localidad.

4. Descripción de los planes de emergencia.

Como medida de emergencia se contempla la incineración de la parcela experimental. En caso de tal eventualidad la distancia de seguridad señalada actuaría como cortafuego.

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)

Descripción de los planes y técnicas de seguimiento.

Las plantas liberadas serán objeto de diversos estudios para evaluar la estabilidad de los genes introducidos.

(1) Se analizará la presencia del transgén en el genoma de chopo utilizando dos aproximaciones experimentales por un lado se amplificará por PCR utilizando cebadores específicos el DNA que codifica el marco de lectura de Dof 5 de pino utilizando como molde DNA genómico extraído de los chopos. Además se harán ensayos de Southern blot con objeto de confirmar la presencia del transgén en el genoma del chopo y del número de copias insertadas en cada línea.

(2) La expresión del transgén 35S-Dof5-GUS-NOS se realizará utilizando técnicas de qPCR para evaluar los niveles del transcrito en los árboles.

(3) La presencia de la proteína se detectará utilizando anticuerpos monoespecíficos generados en conejos frente a la proteína de pino utilizando la técnica de Western blot.

Se realizará una caracterización fisiológica y bioquímica de las líneas transformadas durante las primeras etapas de crecimiento de los árboles. Se han diseñado ensayos dirigidos a comprender los efectos de la sobre-expresión del transgén en el crecimiento de los árboles, y su relación con variaciones estacionales del contenido en carbono y nitrógeno.

Evaluación de los efectos y riesgos potenciales que el cultivo de los árboles modificados genéticamente puedan tener en el medio ambiente.