



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN EN CAMPO DE PLANTAS DE MAÍZ MODIFICADO GENÉTICAMENTE (B/ES/16/03)

Características, objetivo y duración del ensayo:

El Departamento de Producción Vegetal y Ciencia Forestal, de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria de la Universidad de Lleida ha presentado esta solicitud cuyo objetivo es realizar la primera liberación de la línea pura L-Bt-4 de maíz transgénica (20 plantas) y del híbrido de su cruce con la línea transgénica denominada Carolight (20 plantas), con el que se obtiene el híbrido CaroBt, para la evaluación de esta línea respecto a su línea original en los siguientes aspectos:

- 1) Caracterización agronómica y,
- 2) Efectos sobre las plagas y sobre fauna natural.

En primer lugar, la línea L-Bt-4 ha sido obtenida a partir de la línea sudafricana de maíz blanco M37W a la que, mediante la co-introducción por transferencia directa de múltiples genes, o biobalística o bombardeo de micropartículas de oro, se han incorporado 3 genes de la bacteria *Bacillus thuringiensis* que codifican para 3 toxinas Bt diferentes: Cry1Ac, Cry1C y Vip3.

Para el segundo caso, tras la modificación de L-Bt-4 se realizó un proceso de cruzamiento para transferir los 3 genes a la línea Carolight, que expresa mayores niveles de β -caroteno, ascorbato y de ácido fólico y obtener así el híbrido CaroBt.

El vector utilizado para todas las construcciones es el plásmido pAL76 que contiene el promotor constitutivo de la Ubicuitina-1 del maíz y su primer intron y el terminador nopalina sintasa (NOS).

Se pretende llevar a cabo el ensayo entre mayo y diciembre de 2015 en una parcela, localizada en los campos de prácticas de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria (ETSEA) de la Universidad de Lleida.

La parcela de multiplicación y caracterización tendrá 250 m² y estará rodeada de al menos 6 surcos de maíz convencional. Se prevé sembrar 20 plantas de cada una de las líneas a ensayar, con una densidad de 8 plantas/m². El propósito del ensayo es cultivar conjuntamente las líneas modificadas L-BT-4 y CaroBt para que se produzca la autofecundación o el cruzamiento entre plantas hermanas idénticas para su evaluación agronómica.

Antecedentes:

Los años 2012, 2013 y 2014 se llevaron a cabo ensayos de campo con la línea de maíz Carolight para la multiplicación de esta línea transgénica de maíz con endospermo biofortificado con tres vitaminas (notificaciones B/ES/12/38, B/ES/13/16 y B/ES/14/04).



Los informes de resultados de estos ensayos previos han sido enviados a la Comisión Nacional de Bioseguridad, no habiéndose detectado hasta la fecha efectos adversos sobre la salud humana o animal, ni en el medio ambiente.

Identificación y caracterización de riesgos potenciales

a) Caracterización molecular:

Para los ensayos con la línea Carolight, la Comisión Nacional de Bioseguridad solicitó anteriormente que se avanzara en la caracterización molecular del evento, y más concretamente, en la determinación del número de copias, la zona de inserción y el cromosoma específico, mediante la secuenciación de DNA del inserto y de los bordes de inserción.

Para la línea L-Bt-4 se han proporcionado análisis Southern para cada transgen (proteínas Bt) confirmando integración en un solo locus. No obstante, se desconoce por el momento el número de copias del fragmento insertado, pero hay un fragmento completo como mínimo integrado de forma estable en el mismo locus. En cuanto a la localización, aun no se ha iniciado la secuenciación del genoma de la planta L-Bt-4 o de la planta CaroBt.

La Comisión Nacional de Bioseguridad solicita que se avance en los análisis de caracterización y secuenciación genética para completar la caracterización molecular de los eventos utilizados y se presente dicha información para futuros ensayos.

b) Capacidad de transferencia del material genético:

Hasta hace poco tiempo el maíz (*Zea mays*) no tenía parientes silvestres en Europa, por lo que la posible transferencia génica de este maíz modificado genéticamente se reducía a los cultivos de maíz tradicionales. Sin embargo, desde hace algunos años una nueva mala hierba que se identifica como teosinte (*Zea mays* ssp. *mexicana*), perteneciente a la misma especie del maíz, está ya presente en diversas zonas de la geografía española produciendo una infestación muy severa en algunas parcelas y llegando a ocasionar hasta una reducción del 28% en la cosecha, ya que la competencia del teosinte con el maíz cultivado es muy importante.

El polen de maíz es bastante pesado y no suele recorrer distancias de más de 20 metros, por lo que el riesgo de cruce con cultivos vecinos de maíz se reduce considerablemente a medida que aumenta la distancia. La probabilidad de intercambio genético depende de factores como la sincronización de la polinización, la dirección y la intensidad del viento.

La Comisión Nacional de Bioseguridad considera adecuado mantener la **distancia de aislamiento de 200 m con respecto a otros cultivos de maíz**, con el fin de garantizar que no se produzca el cruzamiento. En relación con esta consideración, se ha comunicado por la Catedrática del Departamento correspondiente que existe otro experimento de maíz convencional a una distancia



inferior a 200 metros dentro de los campos de prácticas de la ETSEA de la Universidad de Lleida, pero se utilizará como campo buffer y **deberá ser destruido cuando finalice el experimento.**

Así mismo, y aunque parece que no se ha observado el teosinte en el área del ensayo, **se deberán extremar las precauciones y aplicar medidas de gestión en su caso, para evitar cualquier cruzamiento con esta especie emparentada.**

b) Estabilidad genética y fenotípica:

Salvo para los caracteres modificados, no se han apreciado diferencias morfológicas, fisiológicas o agronómicas en las sucesivas generaciones de multiplicación a partir de las plantas inicialmente transformadas. Tanto para la línea L-Bt-4 como la Carolight han realizado autofecundaciones sucesivas hasta la generación homocigótica T3 obteniendo niveles estables de las proteínas expresadas.

Las generaciones homocigóticas T3 de las dos líneas son las que se han utilizado para la creación del híbrido CaroBt.

La Comisión Nacional de Bioseguridad recuerda al solicitante la necesidad de avanzar en estudios completos de estabilidad genética para futuros ensayos con esta planta modificada genéticamente.

c) Patogenicidad:

No se esperan efectos nocivos causados por las proteínas expresadas. En cuanto a los elementos previtamínicos que se han incorporado en el maíz Carolight, los estudios bioinformáticos realizados han demostrado que no existe una alergenidad potencial en las nuevas proteínas expresadas en la planta transgénica, estudiando su secuencia a nivel aminoacídico y comparándolas con bases de datos de secuencias de alérgenos y toxinas conocidos.

e) Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación:

No se espera ningún efecto diferencial de la planta modificada respecto a la planta original en relación con el establecimiento, supervivencia, diseminación o al modo o tasa de reproducción dada la naturaleza de la modificación genética introducida, ya que la expresión de los genes insertados en las plantas transformadas no parece tener incidencia en estas características. **No obstante, se deberá hacer un seguimiento durante el ensayo para detectar cualquier posible cambio en dichas capacidades.**



f) Efectos sobre organismos diana:

Tanto la línea L-Bt-4 como la CaroBt están diseñadas para expresar resistencia a ciertos insectos lepidópteros y coleópteros, y entre los objetivos del ensayo propuesto está estudiar los efectos sobre ciertas plagas que afectan al maíz.

En el informe de resultados se deberá informar, siempre y cuando el ensayo se vea afectado por dichas plagas, de la efectividad de las plantas modificadas genéticamente sobre las mismas, y de si aparece cualquier efecto inesperado debido a interacciones potenciales entre todas las proteínas expresadas.

g) Efectos sobre organismos no diana:

El notificador afirma que no es de esperar ninguna interacción entre las nuevas proteínas expresadas y los organismos no diana.

Las toxinas Bt expresadas por la modificación genética están diseñadas específicamente para actuar contra determinados insectos lepidópteros y coleópteros por lo que en principio no se espera que afecten a otros organismos vivos presentes en el área de cultivo (competidores, herbívoros, simbioses, parásitos o patógenos).

No obstante, la **Comisión Nacional de Bioseguridad recomienda planificar estudios adicionales para observar posibles efectos sobre organismos no diana y sobre la fauna natural**, con vistas a un potencial cultivo a escala comercial de las líneas de maíz Bt que son objeto de esta notificación.

h) Posible impacto de las técnicas de cultivo, gestión y cosecha empleadas:

Dada la naturaleza de la modificación genética introducida, no se prevé ningún efecto negativo sobre dichas técnicas porque no son diferentes de las que se usan para las plantas no modificadas. En referencia a la presencia del gen *bar*, y tal como informa el notificador, no se deben realizar tratamientos con el herbicida bialafos o glufosinato de amonio.

i) Control y tratamiento de residuos:

La Comisión Nacional de Bioseguridad considera adecuadas las medidas propuestas por la empresa para llevar a cabo el control post-liberación de la zona.

Después de haber cosechado el maíz de la parcela, se repasará y se recogerán a mano las posibles mazorcas que hayan podido caer al suelo para evitar el posible ricio (germinación de las semillas de las mazorcas). Además, se controlará manualmente (con azada o herbicida) el posible ricio que pueda aparecer en otoño o a finales de invierno. En referencia a la presencia del gen *bar*, no se empleará el herbicida bialafos o glufosinato de amonio.



- Se llevará a cabo un seguimiento de los posibles rebrotes en la parcela experimental **durante 1 año tras la finalización del ensayo y no se podrá sembrar cultivo comercial de maíz durante el año siguiente a la realización del mismo**. Los equipos empleados (sembradora y desgranadora) serán limpiados en el lugar del ensayo.
- Los restos vegetales de las plantas transgénicas y de los bordes serán triturados con una grada de discos y enterrados en el suelo. **Los granos cosechados que no sean necesarios para análisis o estudios posteriores se enterrarán en una fosa en el suelo y cubiertos por una capa de al menos 30 cm de tierra.**
- **El experimento de maíz convencional que se encuentra a una distancia inferior a 200 metros dentro de los campos de prácticas de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria de la Universidad de Lleida, será destruido y gestionado cuando finalice el experimento de la misma manera que el ensayo con las plantas modificadas genéticamente.**
- Las **muestras tomadas para análisis deberán envasarse y etiquetarse convenientemente** para su correcta identificación, extremando las medidas de precaución para evitar un posible vertido accidental en el transporte de las muestras.

La Autoridad Competente, en su caso, realizará las visitas de inspección que considere oportunas, antes, durante y tras la finalización de los ensayos.

Cualquier accidente o incidencia que pueda ocurrir durante o después de la realización del ensayo deberá comunicarse inmediatamente a la Comisión Nacional de Bioseguridad y a la Autoridad competente.

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, el ensayo no supone un riesgo significativo para la salud humana y/o el medio ambiente.

Una vez concluidos el ensayo, se remitirá un **informe de resultados** del mismo en español y en inglés a la Autoridad competente de Cataluña 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 ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid, a 24 de febrero de 2016