



INFORME PARA LA COMISIÓN EUROPEA EN EL MARCO DE LA NUEVA INICIATIVA LEGISLATIVA DE PLANTAS OBTENIDAS POR MUTAGÉNESIS DIRIGIDA Y CISGÉNESIS

1. ANTECEDENTES

El pasado 24 de octubre tuvo lugar la celebración de un Grupo de Trabajo conjunto de los Comités de las Directivas 2001/18/EC y 2009/41/EC y del Comité Permanente de Plantas, Animales, Alimentos y Piensos (PAFF). Durante la mencionada reunión, la EFSA presentó una opinión científica y una declaración como respuesta a un mandato de la Comisión en materia de análisis de riesgo¹.

Durante la reunión se llevó a cabo una valoración preliminar del dictamen y adicionalmente se acordó que los Estados Miembros (EEMM) remitieran comentarios por escrito, tanto sobre la mencionada opinión, como sobre posibles “criterios de equivalencia” que permitan determinar si un producto obtenido por nuevas técnicas de mejora genética (NGT) podría haber sido también obtenido por métodos tradicionales de mejora (incluyendo mutagénesis clásica), a efectos del análisis de riesgo.

Considerando lo anterior, el Consejo Interministerial de organismos modificados genéticamente (CIOMG) solicitó el pasado 25 de octubre a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) un informe sobre ambas cuestiones. En lo referente a los posibles “criterios de equivalencia”, el CIOMG propuso trabajar sobre los criterios incluidos en el cuestionario dirigido que se envió a los Estados Miembros, en paralelo a la consulta pública.

Para la elaboración de este informe se ha contado, no solo con los expertos científicos de la Comisión Nacional de Bioseguridad, sino también con la participación de un grupo de Expertos Ad-hoc compuesto por representantes e investigadores del Centro Nacional de Biotecnología, Centro de Investigación en Agrigenómica y Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas.

2. “CRITERIOS DE EQUIVALENCIA”

Como punto de partida para este informe, se han considerado los “criterios de equivalencia” incluidos en el “cuestionario dirigido”, remitido a los Estados Miembros, en relación con el escenario A2. Este escenario se basaría en un sistema de prenotificación para aquellos productos NGT que podrían haber sido igualmente obtenidos por métodos tradicionales de mejora. En este escenario, los productos pasarían a regularse de la misma forma que los productos convencionales y no estarían sometidos a un procedimiento de análisis de riesgo específico.

Se considera que, en general, estos criterios pueden ser útiles para orientar sobre qué productos no deberían regularse como los OMG clásicos, pero no habría que tomarlos como requerimientos a cumplir obligatoriamente para poder establecer el tipo de regulación al que estaría sometido el producto; en cualquier caso, siempre debe prevalecer y aplicarse el enfoque caso por caso.

Además, se considera que los distintos criterios no deben ser mutuamente excluyentes. De hecho, en algunos casos, podría ser suficiente el cumplimiento de un solo criterio para garantizar esa equivalencia.

En resumen, se realizan las siguientes observaciones generales:

¹ <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/7618>



- Es importante que los criterios no se usen como requisitos obligatorios a cumplir, sino como elementos sobre los que deben basarse las decisiones, y siempre caso por caso. El cumplimiento de un solo criterio podría ser suficiente para garantizar esa equivalencia y, por tanto, la justificación de que el producto no se someta a la normativa para los OMG clásicos.
- Los “criterios de equivalencia” deben estar principalmente enfocados en el producto y no en la tecnología para su obtención.
- La interpretación de los criterios se debe realizar caso por caso para cada producto. Un criterio puede tener distintos valores de aceptación (rango) y no siempre se pueden aplicar de forma cualitativa (SI/NO).
- No se debe confundir el concepto de criterio de equivalencia con el concepto de seguridad del producto final. No todos los productos obtenidos por métodos tradicionales son seguros *de facto*.
- Puesto que las NGT tienen un gran potencial para la obtención de nuevas variedades de uso industrial, es importante que se definan también “criterios de equivalencia” para estas aplicaciones concretas, considerando además que podrían no ser coincidentes con los criterios que se adoptasen para usos alimentarios.

C. 1. La modificación (sustitución, supresión, inserción) es más corta que un tamaño definido (número de pares de bases)

Si se apostase por establecer un tamaño definido, este criterio podría aplicarse de forma que, si esta condición se cumpliera, podría aceptarse como equivalente. Por el contrario, si esta condición no se cumpliera, no necesariamente deberían excluirse la posibilidad de que el producto pueda considerarse equivalente a uno resultante de mejora convencional (habría que valorar esta equivalencia en base a otros criterios). Es decir, no debe considerarse como condición *sine qua non*.

No obstante, la utilización de este criterio no resultaría adecuada en base a las siguientes consideraciones:

A la hora de valorar el establecimiento de un tamaño definido (número de pares de bases), procede destacar que la edición genética permite realizar modificaciones pequeñas, que afectan a un reducido número de pares de bases, pero también modificaciones estructurales de mayor tamaño como delecciones, inserciones o incluso reestructuraciones cromosómicas². En este sentido, las nuevas técnicas de secuenciación de lecturas largas están poniendo de manifiesto la ubiquidad de este tipo de variaciones estructurales en la variabilidad natural de las especies cultivadas y su enorme impacto en los procesos tradicionales de domesticación y mejora³.

Además, también en mejora clásica existe la posibilidad de generar “indels” de diversos tamaños, incluso grandes delecciones/inserciones, sobre todo si la mejora se origina por introgresión con especie donantes relacionadas (ej. *S. pennelli* x *S. lycopersicum*). Por otra parte, este tipo de variaciones estructurales, con diferentes tamaños y alcance, también pueden obtenerse mediante mutagénesis

² Ejemplo: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42994-019-00002-0>

³ Ejemplos: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420306164>;
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8541774/>;
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009286742100581X>



convencional⁴. En conclusión, el tamaño máximo de la modificación no es un “criterio de equivalencia” adecuado⁵.

Como complemento de lo anterior, se puede afirmar lo siguiente:

- Existen limitaciones, como es la imposibilidad de una justificación científica, para establecer una relación directa entre el número de pares de bases modificados y las consecuencias funcionales, en el establecimiento de un criterio de equivalencia basado exclusivamente en el tamaño de la modificación introducida.
- Se considera más relevante, a efectos de evaluación de riesgo, que la mutación no afecte a ningún elemento funcional conocido más allá del gen de interés y zonas flanqueantes, la zona codificante o el promotor.
- La introducción de un cisgén, que puede considerarse como una modificación que va más allá de unos pocos pares de bases, también se puede realizar mediante edición genética de forma dirigida. La aplicación de este criterio, que limitaría las modificaciones a un tamaño determinado, podría implicar la exclusión generalizada de los productos cisgénicos, aunque en la práctica la cisgénesis también pueda resultar en la sustitución de un alelo por otro, de manera similar a lo que ocurriría por variabilidad natural y mejor clásica.

En conclusión, no se considera apropiado este criterio para ser propuesto como “criterio de equivalencia” desde el punto de vista del análisis del riesgo basado en criterios científicos.

C. 2. La modificación está presente en otras plantas de la misma especie o de una especie con la que se puede cruzar

Como consideración inicial, se destaca que este criterio no debe basarse tanto en la equivalencia de productos propiamente, como en el hecho de que la misma modificación pueda obtenerse también por mejora clásica o variabilidad natural. Es precisamente esta posibilidad de obtener la misma modificación por técnicas o procesos distintos, lo que justifica que los productos obtenidos por nuevas técnicas de mejora genética, no se regulen de forma diferente a los resultantes de la mejora clásica.

Asimismo, podría ser un buen criterio si no se utiliza como un requerimiento obligatorio en todos los casos, sino como una consideración adicional.

Por otro lado, el primer desafío a la hora de aplicar este criterio sería cómo determinar que dos modificaciones son iguales en distintas plantas. Así, se pueden considerar diferentes factores, como la similitud entre los cambios de nucleótidos, entre las posiciones del gen, fenotipos equivalentes con mutaciones distintas, o si la modificación tiene el mismo efecto sobre la actividad del gen (ej. falta de función, estabilización de la proteína, aumento de expresión). En línea con lo anterior, es importante clarificar si las modificaciones tienen que ser exactamente iguales o equivalentes. Si se aceptase esto último, se podrían valorar otras cuestiones, a efectos de equivalencia, y no sólo la coincidencia total de la secuencia genética introducida (principio caso por caso).

Una modificación equivalente/o similar puede estar presente en la misma especie o en una especie sexualmente compatible. En ese caso, si hay información de su uso seguro como alimento o

⁴ Ejemplos: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbi.12348>; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20154423/>

⁵ Introgression breeding: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.03.006>.



familiaridad con el ambiente (para otros usos diferentes a los alimentarios), esto se debería considerar para no aplicarle la misma regulación que a los OMG clásicos.

Además, debería ampliarse a “Si la modificación está presente en genes ortólogos de otras especies y tiene el mismo efecto sobre el gen” (ej. falta de función, estabilización de la proteína, aumento de expresión)⁶.

Teniendo en cuenta lo anterior, se considera que este criterio es apropiado para ser propuesto como criterio de equivalencia desde el punto de vista científico, pero se requiere una definición clara del mismo, particularmente de su alcance para facilitar su aplicación práctica. En este sentido, debe ser lo más amplio posible para contemplar todas las posibles situaciones de modificaciones similares/equivalentes. Así, la aplicación de este criterio se facilitaría si fuese más allá de la misma especie u otras sexualmente compatibles y pudiera ampliarse también a especies menos relacionadas en determinados casos.

En línea con lo anterior, se propone una redacción alternativa del mismo: *“La modificación pueda estar presente o está probablemente presente en otras plantas de la misma especie o de una especie con la que se puede cruzar, o en genes ortólogos de especies menos relacionadas, en los que causa un efecto funcional equivalente”*.

C. 3. La modificación no pretende cambiar (aumenta o disminuye) la expresión de un gen existente más allá de la variación natural

Se considera que este criterio, tal y como está redactado, no es fácil de aplicar, al ser difícil de verificar su cumplimiento dado que está ligado al concepto de variación natural, algo complejo de medir y cuantificar. Además, se considera redundante con el criterio 2, por tanto, sólo tendría sentido proponer su aplicación si se elimina el criterio C2.

Por otro lado, la modificación de la expresión del gen podría tener varias consecuencias y son precisamente esas consecuencias las que deben determinar si son necesarios más estudios para valorar los potenciales riesgos. Así, sólo cuando la modificación en la expresión de un gen implicase la obtención de un producto sustancialmente diferente al resultante de la aplicación de técnicas de mejora clásica o variación natural, sería necesario realizar un análisis de riesgo en mayor profundidad, puesto que no se podría hablar de equivalencia como tal.

Por ejemplo, si la modificación en la expresión implicase una modificación significativa en la composición del producto o la aparición de efectos adversos “no esperados o no deseados”, ambas cuestiones tendrían que considerarse a efectos de la aplicación de este criterio y se consideraría apropiado solicitar una serie de estudios para valorar los potenciales riesgos.

De igual forma, habría que considerar si la modificación da lugar a la sobreexpresión de un gen a un nivel del que no existe una experiencia previa, en ese caso también habría que considerar la realización una serie de estudios para descartar cualquier potencial efecto negativo.

Por otra parte, muchas de las mutaciones que se realiza en la actualidad por CRISPR están dirigidas a conseguir pérdidas de función de un gen (*knock-out*) y esas mutaciones podrían existir en la naturaleza, pero es muy difícil demostrar si el efecto de la aplicación de la tecnología CRISPR va más allá de la variación natural.

⁶ TB1 and its orthologues affect branching in a number of crops and plant species. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa308>



Además, si la modificación genética por NGT implica la presencia de un rasgo que no se ha observado en esa especie, pero sí en otras y se ha comprobado que es seguro, en este caso, aunque pudiera considerarse que el cambio resultante va más allá de la variación natural, debería tenerse en cuenta también su historial en otras especies a efectos de realizar la evaluación de riesgo (posible reducción de las exigencias y número de estudios solicitados).

En definitiva, en la valoración de este criterio, los extremos son muy claros pero las zonas intermedias son más difusas.

Se considera, por tanto, que tal y como está expresado, este criterio no es apropiado para ser propuesto como criterio de equivalencia para la evaluación de riesgo desde el punto de vista científico. En este sentido se reitera que, en el caso de que la modificación genética tenga por objeto un cambio en el patrón o en los niveles de expresión de un gen, si este cambio se encuentra dentro de los márgenes esperados de la variación natural no debería de someterse a un análisis de riesgo específico.

Se propone la siguiente definición el criterio *“la modificación tiene por único objeto cambiar (aumentar o disminuir) la expresión de un/unos gen(es) existente(s), (o la acumulación de alguna sustancia endógena) pero este cambio está dentro del rango de la variación natural (en la misma u otras especies) sobre la que hay información de uso seguro”*.

C. 4. Las modificaciones son el resultado de la reparación celular de una rotura de ADN dirigida en ausencia de una plantilla de reparación proporcionada externamente

Existe unanimidad en que este criterio carece de base científica. La aplicación del mismo supone poner el foco en la tecnología empleada sin tener en cuenta las características del producto final, que es lo que define verdaderamente el riesgo.

Por un lado, las roturas dirigidas en el ADN no siempre están presentes en el desarrollo de productos NGT.

Por otro lado, el uso de una plantilla de reparación externa puede dar lugar a cambios o mutaciones muy pequeñas e indistinguibles de una modificación que ya está en un producto obtenido por mejora convencional.

Por eso, se debería evitar poner el foco en técnicas específicas, teniendo en cuenta que con algunas de las nuevas tecnologías que se desarrollasen o se están desarrollando se podrían generar productos iguales a los de la mejora clásica.

Por lo tanto, este criterio no se considera apropiado para ser propuesto como criterio de equivalencia para la evaluación del riesgo desde el punto de vista científico.

C. 5. La composición genética resultante permanece dentro de la que es accesible mediante el cruce de especies sexualmente compatibles

Este criterio se considera equivalente con el C2. Además, la propia redacción del criterio está limitando a las plantas obtenidas por cruzamiento convencional cuando también deberían de tener en cuenta los productos obtenidos por mutagénesis clásica.



No se considera que este criterio sea apropiado para ser propuesto como criterio de equivalencia desde el punto de vista científico.

C. 6. El rasgo introducido no da lugar a la síntesis de una sustancia que no esté presente en los productos/alimentos/piensos convencionales existentes

Por un lado, se considera que la definición de este criterio es un poco compleja, y además requiere la demostración de la ausencia de algo (sustancia); cosa que no se considera posible a efectos prácticos.

No obstante, revisando su redacción podría tener validez, porque precisamente sí se considera apropiado/necesario realizar una evaluación en mayor profundidad, en los casos en los que como resultado de la modificación se obtuviese un producto con una sustancia que no está presente en los alimentos/piensos o de la que no se conozca su familiaridad con el entorno. También se considera necesario si esa sustancia se expresa en niveles significativamente distintos a los conocidos.

Con arreglo a lo anterior, se considera que sería más apropiada la siguiente definición *“El objeto de la modificación genética no es la producción en la planta de una sustancia nueva, no presente en la misma u otras especies y de la que no hay información de su uso seguro en alimentación o familiaridad con el entorno”*.

C. 7. Los productos derivados de la planta no contienen proteínas modificadas significativamente similares a toxinas o alérgenos conocidos

La similitud de proteínas con alérgenos se hace mediante comparación con secuencias. Actualmente, el análisis del potencial alergénico que se analiza para los OMG clásicos es un proceso costoso y de baja fiabilidad.

Además, se desconocen todas las sustancias a las que los seres humanos podemos ser potencialmente alérgicos. En este sentido, existen casos obvios como el análisis del gluten donde sí se conoce una secuencia asociada, pero son limitados. Por tanto, se sugiere que se modifique la redacción de este criterio y se sustituya por la siguiente: *“No hay razones para pensar que el alimento producido a partir de la planta contiene proteínas modificadas significativamente similares a toxinas o alérgenos conocidos”*.

En conclusión, este criterio se consideraría apropiado para ser propuesto como criterio de equivalencia desde el punto de vista científico si se cambia la definición.

C. 8. El contenido de alérgenos endógenos del producto derivado de la planta no ha sido modificado.

Se propone modificar la definición del criterio y/o unirlo al anterior por considerarse reiterativo.

Otros posibles criterios

Por otro lado, la CNB considera que se deberían incluir el siguiente criterio.



- *“El tipo de modificación introducida está dentro del rango de posibles modificaciones causadas mediante técnicas de mutagénesis tradicional, recogidas como excepciones en el anexo IB de la normativa sobre OMG”.*

Además, aunque durante las diferentes reuniones de los Comités se ha aclarado que en esta iniciativa no está incluida la epigenética, se debería continuar estudiando la posibilidad de integrar dentro de posibles “criterios de equivalencia” los cambios de tipo epigenómicos, que no afectan a la secuencia nucleotídica ni a la secuencia aminoacídica del producto génico o correspondiente.

Implicaciones de los “criterios de equivalencia” para el procedimiento de evaluación y autorización del producto

Si del análisis de estos criterios se deduce la equivalencia, se propone proceder a una autorización directa del producto, sin que fuese necesario someterlo al proceso actual de evaluación de riesgo y autorización (Directiva 2001/18/CE y Reglamento (CE) 1829/2003).

3. DICTAMEN DE LA EFSA SOBRE CRITERIOS PARA LA EVALUACIÓN DEL RIESGO

En relación con el dictamen de EFSA la CNB considera que:

- Existe un acuerdo con las conclusiones de la EFSA sobre que plantas producidas por mutagénesis dirigida y cisgénesis en algunos casos no presentan nuevos peligros en comparación con las plantas producidas con métodos clásicos de mutagénesis o técnicas de mejora convencional.
- Muchos de los criterios del árbol de decisiones deben ser objeto de un desarrollo posterior para poder ser utilizados de forma práctica en la evaluación de riesgo de los productos obtenidos por NGT.
- Aunque en la declaración de EFSA sobre criterios para la evaluación de riesgos, inicialmente pudiera parecer que cuando no hay ADN exógeno o cuándo se trata de plantas cisgénicas obtenidas por mutagénesis dirigida el proceso se flexibiliza, en el árbol de decisiones que se propone, también se introducen nuevas cuestiones que podrían aumentar las exigencias en materia de evaluación para los operadores. Un ejemplo es el Criterio 5 sobre historial de uso.

Respecto a los criterios se hacen los siguientes comentarios respecto a algunos de ellos:

– Criterio 1: Presencia de DNA exógeno

En la actualidad, la mayoría de las nuevas plantas que se están obteniendo por NGT no tienen genes exógenos. Si bien, es importante definir el alcance del concepto “exógeno” y en este sentido, como se ha señalado previamente, no debería considerarse exógeno los alelos de especies relacionadas.

Por otra parte, este criterio podría utilizarse como un “criterio de equivalencia” de los descritos en el apartado anterior, siempre que, como se ha indicado, por exógeno no se entiendan alelos de otras especies relacionadas.

– Criterio 2: ¿El origen de la secuencia está incluido en el concepto de “breeders’ gene pool”?



La CNB considera que se debería aclarar cuáles son los límites desde el punto de vista científico para considerar que una secuencia de DNA es exógena, pero está incluida dentro del concepto de *breeders' gene pool*, ya que se considera que lo habitual es referirse a especies sexualmente compatibles.

– **Criterio 3: Tipo de integración**

Si se considera que los “*safe harbour targeting*” son sitios donde ya se ha analizado los potenciales riesgos en casos previos, deberían ser públicos cuales son los sitios analizados y considerados “*safe*”.

La aplicación de este criterio deberá mostrar que de la integración en el *safe harbour* no se derivan efectos otros que los propios derivados de dicha integración (mediante metabolómica y transcriptómica comparativa).

Las aplicaciones subsiguientes podrán utilizar el mismo *safe harbour* como precedente validado y no tendrían que presentar datos adicionales.

– **Criterio 5: Historial de Uso Seguro (HoSU)**

El criterio 5 del árbol de decisiones de la EFSA es apreciado como un mecanismo que flexibilizaría el análisis de riesgo respecto a los OMG.

Aunque no hay definición, familiaridad y HoSU ya se utilizan de forma rutinaria en el análisis de riesgo, aunque no siempre se haga de forma explícita. Por ejemplo, durante la evaluación de proteínas expresadas por los transgenes ya presentes en otras especies.

En el caso de cisgénesis/intragénesis, la aplicación del HoSU podría estar enfocada en el historial de uso en el organismo donante de la secuencia cisgénica/intragénesis (posible uso para eliminar mayores requerimientos de análisis de riesgo como estudios de alergenicidad y/o toxicidad).

En el caso de mutagénesis dirigida, la interpretación es más difícil. Como no hay donante, se podría enfocar en el rasgo o alelo resultante de la mutagénesis. Además, existe la posibilidad de aplicación del HoSU entre variedades de una misma especie, entre especies de un mismo género o incluso entre distintos géneros. Se debería aceptar la existencia de un historial de uso seguro en plantas con una mutación homóloga (aunque sea en distintas especies) que ya están en el mercado.

En definitiva, conviene contar con una definición clara y concisa del término que garantice su aplicabilidad tanto a efectos regulatorios como de evaluación de riesgo. Debe concretarse si se sólo se refieren a la misma especie, o también se puede referir al gen/rasgo expresado en otra especie.

4. SEGUIMIENTO DE ESTE INFORME

La CNB, a través de este grupo de expertos, seguirá trabajando en los “criterios de equivalencia” y de evaluación de riesgo, así como en un posible árbol de decisiones para su aplicación práctica.

Madrid, a 9 de diciembre de 2022