



INFORME DE EVALUACIÓN DEL RIESGO DE LA LIBERACIÓN EN CAMPO DE PLANTAS DE TABACO MODIFICADO GENETICAMENTE

(Notificación B/ES/17/09)

Objetivo, características del OMG y duración del ensayo

La empresa Biomass Booster, S.L., ubicada en Logroño, ha presentado a la Autoridad competente del Gobierno de Aragón una solicitud de autorización para realizar un ensayo de campo tabaco modificado genéticamente que expresa una mayor producción de biomasa.

Se propone esta liberación mediante un ensayo experimental de producción de biomasa en tabaco modificado genéticamente por la expresión del gen humano de la adrenomedulina. El objetivo del ensayo es comparar, en condiciones de campo, las diferencias en cuanto a crecimiento y generación de biomasa de la planta modificada genéticamente respecto a su control.

La empresa Biomass Booster S.L. ha llegado a un acuerdo con la Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en su centro “Estación Experimental de Aula Dei-CSIC, (EEAD)” para la realización de este ensayo experimental enmarcado en proyectos relacionados con el objetivo de aumentar la productividad en especies vegetales.

La liberación se realizará en la finca de la Estación Experimental de Aula Dei, compuesta por 48 hectáreas de regadío situadas en el Campus de Aula Dei (Zaragoza) donde se llevan a cabo ensayos de colaboración público-privada. Los cultivos en los que, por lo general, se trabaja en la finca son de maíz, olivo, veza, cebada, trigo y árboles frutales (manzano, melocotonero, ciruelo, cerezo y albaricoquero). En cuanto al lugar de liberación, se trata de un agroecosistema de terreno aterrado y “saso”, con regadío por distintos sistemas, goteo, aspersión y riego a manta, donde se llevan a cabo ensayos de los diferentes grupos de investigación.

La parcela exacta en la que se llevará el ensayo posee una superficie total de 1.9975 ha, de las cuales sólo se ocupará unas 0.5 ha. Se han aportado los datos de localización exacta de la parcela (SIGPAC).

Se utilizarán 96 plantas, de las cuales 48 (12 plantas por 4 repeticiones) serán las modificadas genéticamente y otras 48 plantas control no modificadas (12 plantas por 4 repeticiones), todo ello rodeado por un borde de plantas de tabaco no modificado.

Se pretende llevar a cabo el ensayo entre los meses de mayo a octubre de 2017. Desde el trasplante hasta la cosecha pueden pasar 7-8 semanas. La recolección se realizará en uno o dos días en cuanto se alcance el momento óptimo de recolección.



Identificación y Caracterización de Riesgos Potenciales

a) Caracterización molecular

El organismo receptor, el tabaco (*Nicotiana tabacum*), se ha modificado utilizando *A. tumefaciens* mediante un plásmido comercial (pBI-121, derivado del plásmido Ti de *A. tumefaciens*).

El inserto consiste en un fragmento de 570 pb que codifica para la secuencia de la proteína adrenomedulina. Este gen se obtuvo de la línea celular humana (*Homo sapiens*) A549 mediante técnicas de PCR. Este gen sustituye al gen GUS dentro del plásmido pBI-121 y su función es la de aumentar el ritmo de mitosis y, por tanto, la productividad y tasa de crecimiento de la planta.

El plásmido modificado (pBI-AM) fue introducido en bacterias *A. tumefaciens* mediante electroporación, que luego se utilizaron para infectar pequeños fragmentos de hojas de tabaco. La inserción de los derivados del plásmido pBI-121 se realizó al azar en el genoma de la planta y se insertó toda la región comprendida entre las regiones RB y LB. Esta región comprende el gen de resistencia a neomicina (*nptII*) y el gen de la adrenomedulina (*h AM*) regulado por el promotor 35S. La caracterización molecular realizada se considera suficiente para esta primera fase de experimentación.

Sin embargo, *la Comisión Nacional de Bioseguridad aconseja que se elimine cualquier gen de resistencia antibióticos que expresen las plantas modificadas genéticamente, en el caso de que se prevean futuros usos comerciales.*

b) Capacidad de transferencia del material genético:

Nicotiana tabacum no es una planta autóctona de España y solo se encuentra como cultivos comerciales. Los mayores cultivos de tabaco en España se encuentran en las Comunidades de Extremadura, Andalucía y Cataluña, mientras que están muy poco representados en Aragón, región donde se propone realizar la liberación de esta PMG.

Dado que el tabaco es una especie que utiliza fundamentalmente la autofecundación, y que se va a proceder a eliminar las flores antes de que estas maduren, la probabilidad de diseminación se reduce significativamente.

La Comisión Nacional de Bioseguridad recomienda mantener una distancia de aislamiento de 100 m. entre los ensayos con plantas de tabaco modificadas genéticamente y los cultivos de plantas de tabaco convencionales. El notificador asegura que al hacer este ensayo dentro de la finca de “Aula Dei” (donde no habrá otro ensayo con tabaco coincidiendo con el de Biomass Booster), se asegura el mantenimiento de dicha distancia de aislamiento. Adicionalmente, se procederá a la eliminación manual de las flores, para evitar la producción de semillas.

Por otra parte, en la zona en la que se va llevar a cabo el ensayo no hay especies silvestres afines con las que *Nicotiana tabacum* pueda cruzarse formando híbridos fértiles.



c) Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación:

Aparte de las semillas no se conocen otras formas de supervivencia de esta especie. No existe ninguna evidencia que sugiera que la modificación realizada afecte a la supervivencia de la planta y la convierta en más persistente que las plantas parentales en los hábitats agrícolas, o más invasivas.

Cualquier cambio observado durante o tras finalizar este ensayo en relación con estas características deberá comunicarse.

d) Estabilidad genética y fenotípica:

Dado que el promotor asociado al transgén se activa en todos los tejidos de la planta, el fragmento de inserción se expresa en todos los tejidos de la planta y se mantiene a lo largo del todo el ciclo vital de la planta. Todavía no se ha estudiado la estabilidad a lo largo de las generaciones y por ello, *la Comisión Nacional de Bioseguridad considera que deberían aprovecharse estos estudios para avanzar en los estudios de estabilidad.*

e) Efectos alérgicos o tóxicos

Esta planta modificada genéticamente no está destinada a la alimentación humana o animal.

f) Efectos para la salud animal y humana

Dado que la adrenomedulina es una proteína que se produce de manera habitual en el hombre y en otras especies animales, el notificador considera que la expresión de esta proteína en las plantas de tabaco no debería presentar ningún riesgo para la salud de estos organismos. Además, la adrenomedulina se encuentra en altas concentraciones en la leche humana y de otros mamíferos, por lo que forma parte habitual de nuestra dieta. Por otro lado el tabaco no se utiliza para alimentación animal.

La Comisión Nacional de Bioseguridad considera que, teniendo en cuenta que los niveles de esta proteína podían estar implicados en efectos cardiovasculares, renales y neuroendocrinos, si se continúa en el desarrollo de estos productos y dependiendo del fin último de una posible comercialización (distinta de la producción de biomasa), sería necesario realizar estudios ulteriores para comprobar la ausencia de posibles efectos adversos sobre la salud humana.

g) Efectos sobre organismos no diana

Según el notificador, dado el fenotipo, el modo de acción y el contexto fisiológico en que actúa esta proteína, no se esperan interacciones con organismos no diana.



No obstante, la CNB considera adecuado que se realice una observación detallada durante el ensayo para comprobar si se produce algún efecto adverso sobre alguna especie no diana, en las condiciones del ensayo propuesto.

h) Interacciones con el entorno abiótico

No se esperan cambios. *Cualquier efecto no esperado sobre los procesos biogeoquímicos que se puedan producir deberá, así mismo, comunicarse.*

i) Posible impacto en el medio ambiente debido a las técnicas de cultivo, gestión y cosecha

Se indica que las técnicas que se utilizarán no son diferentes a las del cultivo del tabaco convencional por lo que no esperan impactos distintos.

Control del ensayo y tratamiento de residuos

La Comisión Nacional de Bioseguridad considera, en general, adecuadas las medidas propuestas por la empresa Biomass Booster S.L. para llevar a cabo el control de la parcela de la Estación Experimental Aula Dei (EEAD) y zona de bioseguridad, durante y después del ensayo que se detallan a continuación. No obstante, se indican algunas medidas adicionales que deberán ser tenidas en cuenta (en negrita):

- En relación al transporte todas las semillas y otro material utilizados para el ensayo serán almacenados en recipientes cerrados herméticamente y correctamente identificados. Las semillas se transportarán en envases herméticamente cerrados y éstos a su vez incluidos en cajas selladas y correctamente identificadas. Otro material vegetal se envasará en doble bolsa o malla, según el caso, que se introducirán en cajas herméticamente cerradas y correctamente etiquetadas.
- El lugar del ensayo se encuentra confinado en una finca vallada y con acceso restringido únicamente para personas autorizadas. **Además, deberá asegurarse que se impida el posible ingreso de animales silvestres o de granja a la finca.**
- Se llevará a cabo un control de toda persona que tenga acceso a la parcela del ensayo, mediante un registro de entrada, y que no se tomen muestras sin autorización.
- Se llevarán a cabo en la parcela destinada para el ensayo las labores previas de preparación del terreno como son un alzado con vertedera, seguido de una tabladera, un abonado de fondo y finalmente un rotovator. Durante el ciclo de cultivo se llevarán a cabo las labores culturales de abonado de vertedera, diferentes tratamientos para evitar deficiencias y/o plagas si fuera necesario, y paso de rotovator por pasillos y borduras para eliminar malas hierbas. Una vez terminado el ciclo de cultivo, se volverá a realizar un arado de vertedera.
- **Después de la siembra, la maquinaria será limpiada convenientemente.**



- Se mantendrá una **distancia de aislamiento de 100 m** con respecto a cualquier otro cultivo de tabaco. Así mismo, se rodeará el ensayo con un **borde perimetral formado por al menos tres filas de plantas de tabaco no transgénico**, como trampa de polen.
 - En el momento óptimo de recolección, las plantas serán cosechadas manualmente, incluyendo toda la raíz, y serán transportadas perfectamente etiquetadas en cajas cerradas a un laboratorio situado dentro de la finca, donde se llevarán a cabo todas las determinaciones necesarias.
 - Una vez realizados todos los análisis y guardada una pequeña muestra para posteriores análisis, las plantas sobrantes se llevarán a la parcela empleada y con el rotovator se romperán y enterrarán los restos del cultivo **a la profundidad suficiente para evitar posibles rebrotes**.
 - Durante el ciclo de cultivo, semanalmente los técnicos de la EEAD-CSIC controlarán el correcto crecimiento de las plántulas. Cada vez que detecten una anomalía procederán a avisar al investigador responsable. Y una vez llevada a cabo la cosecha, y aunque se considera poco posible que aparezcan rebrotes debido a la eliminación de las flores durante el ciclo de cultivo y el entierro y triturado de los restos de cosecha, los técnicos de la EEAD-CSIC semanalmente realizarán una inspección visual de la parcela para detectar y eliminar con herbicida las posibles plantas que aparezcan con posterioridad. Cualquier anomalía que surja será comunicada al investigador responsable.
 - Aunque durante el año siguiente al ensayo se cultive otra especie que no sea tabaco, se llevará a cabo un **seguimiento periódico de la parcela de ensayo durante el año siguiente a la realización del mismo** para identificar y eliminar cualquier posible rebrote de plantas espontáneas de tabaco modificado genéticamente.
- Finalmente, en el laboratorio se trabajará bajo las normas de laboratorio establecidas por el CSIC, evitando el contacto con material vegetal presente en el laboratorio **y llevando a cabo una correcta inactivación y eliminación de residuos**.

Se solicita que el ensayo sea controlado por los inspectores de la Autoridad competente del Gobierno de Aragón durante la siembra del ensayo, la cosecha y destrucción del mismo, y también durante el seguimiento de un año de la parcela tras la finalización del ensayo, con el fin de garantizar el cumplimiento de todas estas medidas de control y gestión.

Por último, se informa que ante cualquier incidencia se informará a la Autoridad Competente y a la Comisión Nacional de Bioseguridad y se tomarán las medidas adecuadas, incluida la destrucción del ensayo si fuera necesario.

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

Una vez concluido dicho ensayo **se remitirá un informe de resultados** del mismo, en español y en inglés, a la Autoridad competente 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 5 de mayo de 2017