



INFORME DE EVALUACIÓN DEL RIESGO DE LA LIBERACIÓN EN CAMPO DE PLANTAS DE TABACO MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/22/05)

Antecedentes

Con fecha 10/01/22 se recibió por sede electrónica la notificación **B/ES/22/05**, relativa a un ensayo de campo con líneas de tabaco (cv K326) derivadas por autopolinización de distintos eventos, del Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), Agencia Estatal - Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Esta notificación se estudió en la reunión 162^a de la Comisión Nacional Bioseguridad (CNB), celebrada el 1 de febrero de 2022.

Objetivo y características del OMG

El objetivo del ensayo es la caracterización de plantas de tabaco cv K326 derivadas por autopolinización de los eventos FT15-5, FT19-4, FTSP9-8, MPO24-1-7-1 y MPOFT3B-1 que presentan mutaciones en la secuencia de genes *FT*, *SPLs* y/o *MPO1* endógenos generadas mediante CRISPR/Cas9, dando lugar a fenotipos de no floración, juvenilidad, y/o modificaciones en la composición de alcaloides. El ensayo se pretende realizar durante la campaña de cultivo de 2022.

Basándose en los resultados observados en un ensayo similar previo realizado en 2021, se presenta una nueva solicitud que incluye tres líneas de las ya ensayadas en 2021, un mutante FT (FT15-5), un mutante FTSP (FTSP9-8) y un mutante MPO1 (MPO24-1-7-1) con objeto de:

- i. validar los datos obtenidos en campo en 2021 en relación con los fenotipos de no-floración y juvenilidad de las líneas FT y FTSP en comparación con la línea parental y
- ii. ensayar distintas condiciones de irrigación y fertilización para optimizar la producción de anatabina en la línea MPO.

Además, se incluyen en esta solicitud dos líneas adicionales:

- (1) una línea FT que en condiciones controladas de invernadero requiere condiciones de día corto para florecer (FT19-4) con el fin de evaluar su comportamiento en condiciones de campo en términos de bioseguridad (ausencia de floración durante el periodo que dura la campaña de cultivo de tabaco) y biomasa; y
- (2) una línea MPOFT que combina las mutaciones de pérdida de función de FT5 y de MPO1 (MPO24-1-7-1), a fin de evaluar el efecto de la ausencia de floración en los niveles de alcaloides en un mutante MPO en condiciones de campo.

El objetivo global de la presente liberación es analizar el comportamiento, en condiciones de cultivo en campo, de plantas de tabaco cv K326 editadas genéticamente en genes relacionados con la transición de la fase juvenil a adulta y vegetativa a reproductiva y genes reguladores de la floración (líneas FT, FTSP y MPOFT), así como genes de la ruta biosintética de alcaloides (líneas MPO y MPOFT) y su comparación con la línea silvestre en los siguientes aspectos:



- Líneas FT, FTSP y MPOFT: evaluación del efecto de las mutaciones introducidas en la duración de la fase juvenil/vegetativa y la floración mediante la evaluación de distintos parámetros que podrán incluir:
 - tiempo de floración medido como número de días desde la fecha de trasplante hasta la aparición de la primera inflorescencia;
 - número de hojas en el momento de la aparición de la primera inflorescencia;
 - número de hojas en el momento de la cosecha;
 - ratio entre la longitud y anchura de la hoja;
 - biomasa en el momento de la cosecha medida como peso fresco y/o seco del material cosechado.
- Líneas MPO y MPOFT: evaluación del contenido en alcaloides; evaluación de la biomasa en el momento de la cosecha medida como peso fresco y/o seco del material cosechado. Evaluación a escala piloto del rendimiento en anatabina de la línea MPO24-1-7-1.

La liberación solicitada se enmarca en un proyecto de investigación que tiene por objeto la optimización de la planta de tabaco como biofactoría de moléculas de alto valor añadido. Entre estas moléculas se encuentra la anatabina, un alcaloide presente en plantas de la familia de las solanáceas, tales como el tabaco, berenjena, pimientos o tomates verdes, que presenta propiedades anti-inflamatorias y para la que diversos estudios sugieren efectos positivos en el tratamiento del Alzheimer y de distintas enfermedades autoinmunes^{1,2}.

En este contexto, el grupo de investigación ha generado mutantes CRISPR/Cas de tabaco cv K326 que presentan mutaciones en factores de transcripción de la familia de los genes *SPLs* (grupos V, VI, VII y VIII), genes *FT* y/o genes de la familia *MPO*. Estas mutaciones, consistentes en inserciones o deleciones, resultan en su mayoría en proteínas truncadas y potencialmente en la pérdida de función. Las generaciones T0 y T1 de las líneas generadas han sido evaluadas en un invernadero experimental. En estas condiciones, los dobles mutantes de pérdida de función en FT5 se caracterizan por la ausencia de floración, mientras que mutantes en genes *SPL* presentan una prolongación de la fase juvenil. Los mutantes MPO por su parte, muestran un incremento en los niveles de anatabina y una reducción en los niveles de nicotina.

Características y duración del ensayo

El lugar de liberación propuesto está localizado en la finca experimental del Centro Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (CTAEX), situada en Villafranco del Gadiana, provincia de Badajoz. La finca tiene una extensión de alrededor de 25 ha y cuenta con 4 parcelas. Se aportan planos en la notificación.

El ensayo ocupará una superficie de unos 650 m² dentro de una parcela de 12,38 ha (en la notificación se aportan las coordenadas geográficas de la parcela para su identificación).

¹ Verma M, et al. (2015) Chronic Anatabine Treatment Reduces Alzheimer's Disease (AD)-Like Pathology and Improves Socio-Behavioral Deficits in a Transgenic Mouse Model of AD. *PLoS One*;10(5):e0128224. doi:10.1371/journal.pone.0128224.

² Paris D, et al. (2013) Anti-inflammatory activity of anatabine via inhibition of STAT3 phosphorylation. *Eur J Pharmacol.*;698(1-3):145-153. doi:10.1016/j.ejphar.2012.11.017.



El área de liberación propuesta es la misma que la empleada en liberación previa (B/ES/21/01) finalizada en octubre de 2021. El notificador indica que considera que esta es la ubicación más adecuada ya que las líneas objeto de ensayo o bien formaban parte de la liberación previa (FT15-5, FTSP9-8 y MPO24-1-7-1) o corresponden a otros eventos de transformación con mutaciones en los mismos genes (FT19-4 y MPOFT3B-1).

Además, se informa que tras la última cosecha de la liberación B/ES/21/01 se realizó un pase de gradas con objeto de destruir los restos de material vegetal que permaneciesen en el terreno, enterrándolos en el suelo. Los pases de gradas se repetirán varias veces durante los meses de otoño e invierno, hasta la fecha de trasplante del nuevo ensayo (previsto a principios de mayo) realizándose inspecciones semanales al terreno para controlar la aparición de posibles rebrotes, inspecciones que se mantendrán durante el nuevo ensayo y el año posterior al mismo.

Está previsto que el ensayo empiece el 1 de marzo de 2022 con la siembra de las semillas en invernadero en condiciones confinadas. La fecha estimada de inicio de la liberación voluntaria con el trasplante a campo de las plántulas germinadas en invernadero es 1 de mayo de 2022 extendiéndose hasta el 31 de octubre de 2022.

Se trasplantarán un máximo de 36 plantas de cada línea FT, FTSP9 y MPOFT, un máximo de 800 plantas de la línea MPO24-1-7-1, y un máximo de 236 plantas de la línea parental K326, lo que supone un total de 1.180 plantas. La densidad de plantación será de 2 plantas por m².

Las 36 plantas de las líneas FT, FTSP9 y MPOFT (denominadas NFL) más la línea parental K326 (WTK), serán dispuestas en parcelas experimentales de 12 plantas, según un diseño experimental de bloques al azar con tres repeticiones por línea. Cada parcela estará formada por una línea de cultivo de 1,5 m de ancho y 4 m de largo. Cada parcela, en columnas, se separará de la parcela siguiente por un pasillo de 1,5 m.

Por otro lado, las 800 plantas de la línea MPO24-1-7-1 (AKL3) se colocarán en 4 bloques de 200 plantas cada uno, de 4 líneas de cultivo de 1,5 m cada una (6 m de ancho) y 16,5 m de largo. A continuación de cada uno de estos bloques y con una separación de 1,5 m, se establecerán 50 plantas de la línea parental K326 (WTK), en parcelas de 6 m de ancho (4 líneas de cultivo) y 4 m de largo. Entre los dos diseños habrá una separación de 1,5 m (3 m de línea de cultivo a línea de cultivo).

Planes de control, seguimiento y tratamiento de residuos tras la liberación

- No existen especies silvestres compatibles en la zona. Puede producirse la polinización cruzada con otras plantaciones de tabaco comercial. En este ensayo, la distancia de aislamiento respecto a otras plantaciones comerciales de tabaco es de al menos 100 km. Está prevista la realización de otro ensayo de liberación de plantas de tabaco modificadas genéticamente (B/ES/22/01) en la finca experimental de CTAEX. La distancia mínima entre estos ensayos será de 100 m.
- Las semillas serán trasladadas desde el IBMCP (Valencia) a las instalaciones de CTAEX en tubos de microcentrífuga de 1,5 ml con tapón de rosca. Cada tubo irá identificado con una etiqueta adhesiva en la que se indicará el nombre de la línea de tabaco a que corresponde. El cierre de los tubos se sellará con parafilm como medida de seguridad adicional, lo que evitará su apertura



accidental. Los tubos así preparados se embolsarán en una bolsa termosellada, que se introducirá en un sobre acolchado para su envío. Tanto el sobre como la bolsa termosellada con los tubos de semillas llevarán anexa una ficha con la información relevante que incluirá, siguiendo las indicaciones del Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología: (i) la identificación de la mercancía como semillas editadas genéticamente, y (ii) el nombre y datos de contacto del remitente y del destinatario. El traslado se realizará en vehículo particular o a través de una empresa de mensajería.

- La germinación de las semillas se llevará a cabo en un invernadero situado en la finca experimental de CTAEX bajo condiciones confinadas. El invernadero en el que se realizara la siembra cuenta con los permisos necesarios para la realización de actividades tipo 1 con OMG en condiciones confinadas (notificación A/ES/19/I-52). Para su traslado a la parcela de la finca experimental, se procederá a cubrir los semilleros con plástico evitando así la posible dispersión accidental de las plántulas de tabaco. Se procederá a vaciar los semilleros de las plántulas y sustrato sobrantes que se embolsarán para su autoclavado. Las bandejas de poliestireno utilizadas para el semillero se limpiarán cuando estén ya vacías.
- Una vez trasplantadas, para evitar la posible dispersión de polen o semilla se procederá al despunte de las plantas antes de la emisión del botón floral (en los casos en los que se produzca la floración) y se aplicará un tratamiento de control de los brotes; asimismo, se realizará un seguimiento de las plantas para eliminar manualmente cualquier brote que escape al tratamiento.
- Tras el cosechado, el material recolectado se secará en una estufa localizada en las instalaciones de CTEX, junto a la finca experimental o bien se secará al aire en bandejas colocadas en el lugar de liberación. Los restos vegetales que permanezcan en el suelo tras la cosecha se triturarán y enterrarán mediante pases de grada de discos.
- Una parte de las hojas secas se envasarán en cajas debidamente selladas e identificadas y se trasladarán a los laboratorios de la empresa IDOASIS para el análisis de su composición en alcaloides. Las hojas secas restantes se destruirán mediante incineración en CTAEX para la que se solicitará el permiso de la autoridad competente de la Junta de Extremadura. El material que recibirá la empresa IDOASIS será en todo caso **material derivado NO VIABLE (hojas secas) sin capacidad de reproducción o regeneración, ni de replicación del material genético.**
- Durante el ciclo de cultivo, personal de CTAEX realizará un seguimiento semanal (o más frecuente en algunos periodos) del cultivo e informarán al investigador responsable de cualquier anomalía detectada. Tras la cosecha se procederá al triturado y enterrado de los restos de tallos y raíces mediante pases de grada de discos. Durante el año posterior a la liberación, personal de CTAEX realizará inspecciones visuales semanales de la parcela para detectar y eliminar posibles rebrotes. Al finalizar el ensayo se enviará un informe de resultados a la autoridad competente.
- En el caso de que surja una situación de emergencia derivada de fenómenos naturales, se constituirá un grupo de trabajo formado por el coordinador del proyecto y los responsables de la solicitud y de los ensayos. El grupo hará una evaluación de la situación, tomará las decisiones más apropiadas y realizará el seguimiento posterior. La situación será notificada inmediatamente a la Autoridad Competente.



Identificación y Caracterización de Riesgos Potenciales

a) Caracterización molecular

Las líneas objeto de este ensayo presentan mutaciones en genes endógenos de tabaco generadas mediante la técnica CRISPR/Cas9, utilizando para ello la transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* o *Agrobacterium rhizogenes*. Como vectores de transformación se han utilizado los vectores GB2710, GB2713 y GB2484, que contienen las unidades transcripcionales de las proteínas DsRed y NptII (marcadores de selección), la unidad transcripcional de la proteína Cas9, y las unidades transcripcionales para la expresión de los gRNAs complementarios a los genes diana.

Líneas FT15-5 y FT19-4.

Las modificaciones introducidas en las líneas FT consisten en mutaciones (deleciones o inserciones) en FT5, un activador de la floración independiente de fotoperiodo perteneciente a la familia de genes *FT* (flowering locus T). Estas líneas se han obtenido mediante editado genético (CRISPR/Cas9) de una planta silvestre del cultivar comercial K326 y presentan mutaciones bialélicas en los dos homólogos de FT5 identificados en el genoma de este cultivar.

- La línea FT15-5#T2 ha sido objeto de un ensayo de liberación voluntaria previo (notificación B/ES/21/01). Las mutaciones presentes en esta línea dan lugar a la formación de formas truncadas de las proteínas. Durante su crecimiento en invernadero, la línea FT15 (T0) de la que deriva se caracterizó por la ausencia de floración tras un periodo de 150 días desde la siembra, mientras que la línea silvestre y una línea con mutaciones en solo uno de los homólogos de FT5 florecieron a los 48 y 63 días respectivamente.
- La línea FT19-4 por su parte, presenta una mutación bialélica en el gen *Nitab4.5_0000819g0010.1* que resulta en una proteína truncada. En cuanto a su homólogo (*Nitab4.5_0000751g0180.1*), la mutación presente en esta línea resulta en una única sustitución aminoacídica. Esta línea presenta ausencia de floración en condiciones de día largo en invernadero habiendo permanecido así más de año y medio sin florecer. Sin embargo, la planta mantiene la capacidad de florecer habiéndose logrado la misma en condiciones de día corto. Las semillas que se utilizarán en este ensayo se han obtenido en condiciones de día corto no habiendo sido necesaria la complementación con el gen *FT* de *A. thaliana*.

La construcción utilizada para generar estas líneas contiene sgRNA adicionales dirigidos a cinco genes *FT4* de tabaco. FT4 es, al igual que FT5, un activador de la floración. Las líneas FT15-5 y FT19-4 no presentan mutaciones en ninguno de los genes *FT4*.

La línea FTSP9-8 presenta mutaciones bialélicas en los dos genes *FT5* y ha sido objeto de una liberación previa (notificación B/ES/21/01), se obtuvo mediante el editado genético (CRISPR/Cas9) de la línea de tabaco cv K326 L157-5, una línea no transgénica generada mediante CRISPR/Cas9 que incorpora mutaciones (deleciones o inserciones) en siete *SPLs* y que ha sido también descrita previamente (notificación B/ES/20/01).



La línea 157-5, utilizada como línea parental de la línea FTSP9-8, presenta mutaciones en 7 *SPLs* pertenecientes a los grupos VI y VIII. La línea FTSP9-8 presenta, además de estas mutaciones y de las mutaciones en los genes *FT5*, mutaciones en genes *SPL* adicionales que incluyen representantes de las clases V, VI, VII. Durante su crecimiento en invernadero, esta línea mostró un fenotipo de no floración que se mantuvo durante su crecimiento en campo (notificación B/ES/21/01).

La línea MPO24-1-7-1#T3 se ha obtenido a partir de una planta silvestre de la variedad comercial K326 presentando mutaciones genes *MPO1*. *MPO1* cataliza el segundo paso de la ruta de biosíntesis de alcaloides en tabaco en el que N-methylputrescina es oxidativamente deaminada a 4-aminobutanal que espontáneamente forma el catión N-metilpirrolinio. La posterior condensación del catión N-metilpirrolinio con un derivado del ácido nicotínico da lugar a la formación nicotina. El ácido nicotínico es a su vez un precursor de la síntesis de la anatabina. El análisis del contenido en alcaloides de esta línea muestra una fuerte reducción en el contenido en nicotina acompañada de un aumento significativo en el contenido de anatabina conforme a lo que se esperaría en mutantes de pérdida de función de *MPO1*. Este fenotipo se ha observado tanto en condiciones de invernadero como en condiciones de campo (B/ES/21/01).

La generación de las líneas FT, SPL, FT-SPL y MPO se ha llevado a cabo en las instalaciones del IBMCP, en el campus de la Universidad Politécnica de Valencia, que cuentan con la correspondiente autorización para realizar operaciones con OMG de tipo 1 en condiciones confinadas (Notificación A/ES/04/I-06).

b) Capacidad de transferencia del material genético

El tabaco es una especie subtropical originaria de Centroamérica y América del Sur que no tiene especies antecesoras en Europa, por lo que no existen especies compatibles silvestres que puedan cruzarse formando híbridos fértiles. *Nicotiana tabacum* solo se encuentra como cultivo comercial y el cultivo de tabaco en rama en España se concentra principalmente en Extremadura, región donde se propone realizar la liberación de esta planta modificada genéticamente. 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 éstas maduren, con esta medida la probabilidad de diseminación se considera que se reduce significativamente.

El CBMCP indica que la localización en la que se prevé realizar el ensayo se encuentra a una distancia de al menos 100 km de las zonas de producción de tabaco comercial con el que podría ser compatible y, por otra parte, que se va a realizar otro ensayo con otra línea de tabaco modificada genéticamente en la misma parcela de la finca experimental del CTAEX, pero respetando una distancia de aislamiento entre los dos ensayos de 100 m.

Para ensayos con tabaco modificado genéticamente, **la CNB recomienda mantener una distancia mínima de aislamiento de 100 m** entre los ensayos con plantas de tabaco modificadas genéticamente y los posibles cultivos de plantas de tabaco convencionales, por lo que la distancia propuesta entre los dos ensayos se considera adecuada.

c) Estabilidad genética y fenotípica



En este caso no procede demostrar la estabilidad ya que las líneas de tabaco objeto de este estudio no contienen ningún fragmento de inserción.

d) Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Según el notificador 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 invasoras en los hábitats naturales. Además, las prácticas de cultivo empleadas minimizan el riesgo de persistencia o invasión. Durante el ensayo se procederá al despunte de las plantas antes de la emisión del botón floral previniendo la formación de polen y semillas. Asimismo, se procederá a enterrar los restos de cultivo para evitar posibles rebrotes. Durante el año siguiente al ensayo se llevará a cabo un seguimiento periódico de la parcela para identificar y eliminar cualquier posible rebrote de plantas de tabaco modificado.

e) Cualquier ventaja o desventaja que haya adquirido la PMG

Las modificaciones introducidas en las líneas consisten en mutaciones (inserciones o deleciones) en genes endógenos que resultan en la mayoría de los casos en la producción de formas truncadas de la proteína que codifican y, potencialmente, en su pérdida de función. Las mutaciones en genes *SPL* están dirigidas a retrasar la transición de fase juvenil a adulta y vegetativa a reproductiva y no se prevé que confieran ninguna ventaja selectiva a la planta modificada. Las mutaciones en el gen *FT* tienen como resultado la inhibición de la floración lo que impide la propagación sexual de la planta y afecta por tanto negativamente a su capacidad de diseminación (líneas FT y FT-SPL). En cuanto a las mutaciones en los genes *MPO* y *BBLs* resultan en una reducción en los niveles de nicotina que, según el notificador, podría hacer las plantas más susceptibles al ataque por herbívoros.

De cualquier modo, cualquier cambio observado durante o tras finalizar este ensayo en relación con estas características deberá comunicarse a la CNB.

f) Impacto potencial sobre los organismos diana y no diana

El notificador indica que la modificación introducida no está diseñada contra ningún organismo vivo. Además, se menciona que no se conoce ninguna característica derivada de estas modificaciones que pueda producir ningún impacto sobre los niveles de población de competidores, herbívoros, simbioses, parásitos o patógenos. Las modificaciones introducidas en los genes *MPO* resultan en una reducción en los niveles de nicotina que podría potencialmente hacer las plantas más susceptibles a herbívoros. En la liberación previa de la línea MPO24-1-7-1 portadora de estas mutaciones (notificación B/ES/21/01) no se observó mayor susceptibilidad a herbívoros.

Sin embargo, teniendo en cuenta la expresión de mayores cantidades de anatabina en la línea MPO24-1-7-1#T3, sustancia que puede actuar como insecticida sobre especies beneficiosas³, **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**

³ *An essay on ecosystem availability of Nicotiana glauca graham alkaloids: the honeybees case study*, Kasiotis et al. BMC Ecol (2020). [<https://doi.org/10.1186/s12898-020-00325-3>].



condiciones del ensayo propuesto y que se reporte en el informe final de resultados sobre esta cuestión en concreto.

g) Posibles efectos sobre la salud humana y salud animal

Los efectos negativos para la salud humana derivados del contacto con las plantas de tabaco modificadas no difieren de los del cultivo de tabaco convencional: la manipulación de hojas de tabaco verde sin la protección adecuada puede provocar intoxicación por nicotina al ser esta absorbida por la piel (enfermedad del tabaco verde); asimismo, la aplicación de productos fitosanitarios para el control de plagas durante el cultivo requiere el uso de equipo adecuado para la protección personal por parte de los trabajadores. Durante este ensayo se aplicarán las medidas de protección adecuadas.

En cuanto a efectos sobre la salud animal, no procede. Las líneas de tabaco objeto de este ensayo no están destinadas a la alimentación animal.

h) 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.

i) Posibles efectos inmediatos y/o diferidos sobre los procesos biogeoquímicos

No se prevé que el cultivo de las plantas editadas tenga ningún efecto sobre los procesos biogeoquímicos distinto al cultivo convencional del tabaco. **Cualquier efecto no esperado sobre los procesos biogeoquímicos que se puedan producir deberá, así mismo, comunicarse.**

Medidas de gestión: control del ensayo y tratamiento de residuos

La CNB considera adecuadas, en general, las medidas propuestas por el Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, junto con el CTAEX, en donde se realizará el ensayo, así como las medidas de bioseguridad, antes, durante y después del ensayo, que se detallan a continuación. No obstante, se indican (en negrita) algunas medidas adicionales y relevantes que deberán ser tenidas en cuenta:

- El ensayo se ubicará en una explotación agrícola privada y los responsables de éste se han comprometido a realizar inspecciones periódicas semanales. La parcela en la que se establecerá el ensayo se encuentra vallada con pared de alambre y vigilada las 24 horas del día (cámaras de la red de videovigilancia).
- Las semillas serán trasladadas desde el laboratorio al lugar de preparación del semillero en tubos debidamente sellados e identificados.
- Todas las plántulas que no se utilicen se sacarán del semillero y se embolsarán para su autoclavado, así como **la tierra del semillero y las semillas no germinadas.**
- Para evitar la posible dispersión de polen o semilla se procederá al despunte de las plantas antes de la emisión del botón floral y se aplicará un tratamiento de control de los brotes; **se realizará un seguimiento de las plantas para eliminar manualmente cualquier brote que escape al tratamiento.**



- Para evitar el posible rebrote de restos que permanezcan en el terreno tras la cosecha se realizarán pases de grada de discos que triturará los restos de raíces y tallos y los enterrará en el suelo. **Se realizará un seguimiento de la parcela durante el año siguiente a la liberación para controlar y eliminar potenciales rebrotes.**
- Las hojas de tabaco cosechadas se secarán en un secadero localizado en las instalaciones del CTAEX junto a la finca experimental. Tras su secado, las hojas (material no viable), se envasarán en cajas debidamente selladas e identificadas para su traslado a los laboratorios de la empresa IDOASIS. **Dichas cajas deben ser herméticas.** Las hojas secas restantes se destruirán mediante incineración, para lo que se solicitará permiso a la Autoridad Competente de la Junta de Extremadura.
- Durante el ciclo de cultivo, personal del CTAEX realizará un **seguimiento semanal** del cultivo e informarán al investigador responsable de cualquier anomalía detectada. Tras la cosecha se procederá al triturado y enterrado de los restos de tallos y raíces mediante pases de grada de discos.
- El siguiente año, cuando finalicen los ensayos, la parcela utilizada **no deberá ser sembrada con tabaco no modificado genéticamente o deberá ser dejada en barbecho.**
- Durante el año posterior a la liberación personal del CTAEX realizará **inspecciones visuales semanales de la parcela** para detectar y eliminar posibles rebrotes.
- Al finalizar el ensayo se enviará un informe de resultados a la Autoridad Competente.
- En el caso de que surja una situación de emergencia derivada de fenómenos naturales, se constituirá un grupo de trabajo formado por el coordinador del proyecto y los responsables de la solicitud y de los ensayos. El grupo hará una evaluación de la situación, tomará las decisiones más apropiadas y realizará el seguimiento posterior. La situación será notificada inmediatamente a la Autoridad competente.

Consideraciones finales y conclusión

La CNB recomienda que, tal y como se establece en la Ley 9/2003 y Real Decreto 452/2019, de 19 de julio, por el que se modifica el Real Decreto 178/2004, de 30 de enero, el ensayo sea **controlado** por la Autoridad Competente para los casos relacionadas con la realización de los programas de investigación a que se refiere el artículo 3.2.b) de la Ley 9/2003, de 25 de abril, **durante la siembra, 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, ante cualquier incidencia se deberá informar 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, animal y el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo se remitirá un informe final 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 24 de febrero de 2022