

## 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>B/ES/16/02</b>
b) Fecha de acuse de recibo de la notificación: 01/02/2016
c) Título del proyecto: <b>Multiplicación y evaluación de una línea transgénica de maíz con endospermo biofortificado con tres vitaminas</b>
d) Período propuesto para la liberación: Del 25 de Abril/Mayo – Diciembre 2016

#### 2. Notificador

(a) Nombre de la institución o empresa: <b>Universidad de Lleida</b>
--

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	No <input checked="" type="checkbox"/>

4. *¿Ha notificado el mismo notificador la liberación de esa misma PSMG en algún otro lugar dentro o fuera de la Comunidad?*

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el número de notificación: En (2011) Louisiana State University LSU1109.1 (USA), en 2012 B/ES/12/38, 2013 B/ES/13/16 y en 2014 B/ES/14/04 (España).	

## B. Información sobre la planta modificada genéticamente

### 1. Identidad de la planta receptor o parental.

a) Familia: Gramineae
b) Género: Zea
c) Especie: mays
d) Subespecie (si procede):
Cultivar/línea de reproducción (si procede): M37W
e) Nombre vulgar: maíz

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

Nuestro grupo de investigación ha generado una variedad elite Sudafricana transgénica denominada línea L1 (Carolight) en la que han sido aumentados simultáneamente los niveles de tres vitaminas específicamente en el endospermo de las semillas. Estos resultados han sido obtenidos gracias a la modificación simultánea de tres vías metabólicas diferentes. **Los granos transgénicos contienen 169 veces la cantidad normal de  $\beta$ -caroteno, 6 veces la cantidad normal de ascorbato y el doble de la cantidad normal de ácido fólico.** Los niveles de estas vitaminas producidas permanecen estables hasta la generación homocigótica T4 que es la última que hemos analizado. Este logro, que actualmente supera a cualquier conseguido aplicando únicamente mejora genética clásica, abre el camino para el desarrollo de cereales nutritivamente completos para el beneficio de las poblaciones más empobrecidas.

### 3. Tipo de modificación genética.

(a) Inserción de material genético: Sí
(b) Eliminación de material genético: No
(c) Sustitución de una base: No
(d) Fusión celular: No
(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 de selección *bar* y 4 cDNAs que codifican para los enzimas de la ruta metabólica de las vitaminas  $\beta$ -caroteno, ascorbato, y de ácido fólico.

Para aumentar los niveles de  **$\beta$ -caroteno** hemos introducido el cDNA fitoeno sintasa (*psy1*) de maíz (*Zea mays*) dirigido por el promotor de trigo LMW glutenina y el gen *crtI* de *Pantoea ananatis* (antes *Erwinia uredovora*) (que codifica la caroteno desaturasa) dirigido por el promotor del D-hordeína de cebada.

Para aumentar los niveles de **ascorbato** hemos introducido el cDNA que codifica para la dehidroascorbato reductasa (*dhar*) de arroz dirigido por el promotor D-hordeína de cebada.

Para aumentar los niveles de **ácido fólico** hemos introducido el gen *folE* de *E. coli* que codifica para GTP ciclohidrolasa (GCH1), dirigido por el promotor D-hordeína de cebada.

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

No aplicable

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

**Transformación de maíz.** Las plantas de maíz (*Zea mays* L., cv. M37W) se cultivaron en invernadero a una temperatura de 28/20 °C día/noche con un fotoperiodo de 10 h y una humedad relativa del 60–90% durante los primeros 50 días, seguido por un periodo de mantenimiento de una temperatura 21/18 °C día/noche con un consiguiente fotoperiodo de 16-h. Los embriones zigóticos inmaduros fueron extraídos a los 10–14 días después de su polinización y cultivados en medio N6 en cápsulas de Petri. Después de 5 días de incubación, los embriones fueron subcultivados a un nuevo medio N6 con una concentración osmótica muy elevada (0.2M manitol, 0.2M sorbitol), donde se mantienen 5–6 h antes del bombardeo. El bombardeo se realiza con partículas de oro recubiertas con los genes.

**Regeneración de plantas.** Los callos bombardeados fueron seleccionados en un medio N6 que contiene fosfinotricina. Las 75 plantas transgénicas regeneradas fueron analizadas mediante PCR para identificar los 5 genes introducidos.

**Análisis moleculares.** Las PCR genómicas fueron realizadas mediante la combinación de tres conjuntos de cebadores para cada gen generando secuencias entrelazadas. Posteriormente confirmamos la expresión de los transgenes mediante transferencia de Northern, y se identificó una planta líder (planta línea L-1, Carolight) que contiene y expresa los 4 transgenes.

Esta línea L-1 (Carolight) fue autopolinizada para producir semillas T1. Las generaciones T2, T3 y T4 se han obtenido a partir de la línea madre mediante autofecundaciones sucesivas.

Las semillas transgénicas de la Línea L-1 (Carolight) contienen 169 veces la cantidad normal de  $\beta$ -caroteno, 6 veces la cantidad normal de ácido ascórbico y doble de ácido fólico cuando se compara con la línea control M37W.

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 aplicable

### 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.

El objetivo de la presente liberación es la multiplicación de la línea pura L1 de maíz transgénica (Carolight) y biofortificada con 3 vitaminas para su evaluación agronómica y posterior desarrollo (el mismo objetivo de las liberaciones B/ES/12/38, B/ES/13/16 y B/ES/14/04). Se prevé evaluar los

mismos aspectos: efectos sobre las plagas y sobre fauna natural, aptitud para el procesamiento industrial, aptitud para la alimentación animal (se adjunta manuscrito aceptado donde se describe la evaluación en detalle) y evaluación de su aptitud combinatoria para la obtención y posterior desarrollo de nuevas variedades híbridas (se esta preparando un manuscrito que reúna todos estos resultados).

## 2. Localización geográfica del lugar de la liberación.

Se prevén una localización en el Municipio de Lleida

## 3. Área del lugar (m<sup>2</sup>).

500 m<sup>2</sup> rodeado de 6 filas de maíz convencional

## 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.

Se han realizado tres campos experimentales con este evento en la misma localidad B/ES/12/38, B/ES/13/16 y B/ES/14/04. En este campo las plantas fueron totalmente normales con la única diferencia observada en comparación a sus controles, era el fenotipo y genotipo esperado para L-1 (Carolight).

## 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.*

- En las sucesivas generaciones de multiplicación realizadas, no se ha detectado ninguna diferencia morfológica, fisiológica ni agronómica entre las plantas transformadas y las plantas convencionales salvo en lo referente a la presencia de las 3 vitaminas incorporadas
- La modificación genética introducida en el material que se solicita liberar consiste en la incorporación de varios genes responsables de la síntesis de diferentes vitaminas con la finalidad de mejorar el valor nutritivo del grano. No se prevé ningún efecto negativo sobre la salud humana sino todo lo contrario.
- El consumo de vitaminas tampoco presenta ningún riesgo para los animales que se alimenten con el grano biofortificado con vitaminas.
- La modificación genética no tiene como objetivo organismos diana a eliminar. No se prevé por tanto ningún efecto tóxico sobre éstos ni sobre otros organismos del ecosistema.
- Dada su condición de especie cultivada, las variedades de maíz están seleccionadas para germinar el siguiente ciclo de cultivo cuando se den las condiciones ambientales adecuadas. Su supervivencia asilvestrada es difícil por estar adaptada a las condiciones de cultivo intensivo. En nuestra zona de ensayo los granos que hayan logrado germinar después de la

cosecha mueren por los fríos otoñales e invernales. No se prevé por tanto ninguna ventaja selectiva en ambientes naturales respecto a plantas no modificadas genéticamente.

- No se prevén efectos sobre los ciclos biogeoquímicos ya que las vitaminas incorporadas se mineralizan de la misma manera que la mayoría de moléculas orgánicas.

**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.**

En el caso del maíz transgénico multivitamínico de este informe, el riesgo es muy bajo por tratarse de una mejora dirigida a aumentar el valor nutritivo del grano y no a neutralizar otros organismos. No obstante se tomarán las siguientes medidas de seguridad:

- La parcela se localizará en una zona urbana donde no se cultiva maíz.
- La parcela de multiplicación del maíz transgénico se rodeará de una franja de al menos 6 líneas de una variedad convencional autorizada para disminuir la cantidad de polen liberado fuera de la zona de cultivo.
- En el área total de liberación propuesta no hay presencia de teosinte, por lo que no existe riesgo de cruzamiento con otras especies emparentadas.
- El grano cosechado del maíz del borde será destruido y enterrado.
- El grano cosechado del maíz transgénico L1 se manipulará, transportará y conservará en envases cerrados por personal cualificado.
- Los equipos empleados (sembradora y desgranadora) serán convenientemente limpiados en el lugar de ensayo. El maíz se cosechará a mano. Se ha aportado un protocolo para la limpieza de la maquinaria juntamente con la documentación del informe de liberación B/ES/14/04.
- Las plantas de la variedad transgénica y de la variedad del borde serán trituradas con grada de discos y enterradas en el suelo.
- Después de haber cosechado el maíz de la parcela, se repasará la parcela y se recogerán a mano las posibles mazorcas que se hayan podido caer en el suelo para evitar el posible rizo (germinación de las semillas de las mazorcas). Además, se controlará manualmente (con azada o herbicida) el posible rizo que pueda aparecer en otoño o a finales de invierno.
- El ensayo será revisado periódicamente para registrar cualquier información relacionada con algún efecto adverso para el medio ambiente y la seguridad alimentaria que será notificada a la autoridad competente.
- En el caso de que se dieran condiciones climatológicas apropiadas, como un invierno suave, la posible aparición de ricios debido a la germinación de las semillas de maíz que pudieran permanecer en el suelo, sería controlada mediante el arranque manual o mecánico de las plántulas.
- Al final del ensayo se enviará un informe a la autoridad competente.

**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)**

No aplicable