

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/ES/24/42
b) Fecha de acuse de recibo de la notificación 17/12/2024
c) Título del proyecto: Desarrollo de una línea de tabaco obtenida mediante edición genética con alto contenido en anatabina.
d) Período propuesto para la liberación: 1 de febrero de 2025 - 30 de noviembre de 2025

2. Notificador

(a) Nombre de la institución o empresa: Madeinplant S.L.

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 <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código o códigos del país:	

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el número de notificación:	

B. Información sobre la planta modificada genéticamente

1. Identidad de la planta receptor o parental.

a) Familia: <i>Solanaceae</i>
e) Género: <i>Nicotiana</i>
f) Especie: <i>Nicotiana tabacum</i>
g) Subespecie (si procede):
Cultivar/línea de reproducción (si procede): K326
h) Nombre vulgar: tabaco

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

Las plantas de tabaco objeto de este ensayo presentan mutaciones (deleciones e inserciones) en genes MPO endógenos. Las mutaciones han sido generadas mediante el sistema CRISPR/Cas9. Estas plantas no contienen ningún fragmento de DNA exógeno.
--

3. Tipo de modificación genética.

a) Inserción de material genético:

b) Eliminación de material genético:

c) Sustitución de una base:

d) Fusión celular:

e) Otro (especifíquese): editado genómico mediante CRISPR/Cas9

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.

No procede.

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

Las plantas editadas presentan mutaciones en genes MPO1 (N-metilputrescina oxidasa 1) de tabaco, un enzima que cataliza el segundo paso de la ruta de biosíntesis de alcaloides en tabaco. Las mutaciones introducidas consisten en inserciones o deleciones en la secuencia del gen que resultan en la producción de proteínas truncadas y potencialmente en su pérdida de función. En condiciones de invernadero estas líneas presentan una reducción en los niveles de nicotina y un aumento en los niveles de anatabina.

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

Transformación de tabaco. Generación de líneas transgénicas T0. Las líneas de tabaco objeto de este ensayo han sido generadas mediante la técnica CRISPR/Cas9 a partir de plantas de tabaco del cultivar comercial K326. Para ello, se procedió a la transformación mediada por *Agrobacterium rhizogenes* de las plantas de tabaco con el vector de transformación correspondiente, que contiene 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.

Generación de líneas T1. La generación T1 se obtuvo mediante autofecundación a partir de las líneas T0.

Selección de líneas T1 libres de T-DNA. El análisis de la presencia de T-DNA en las plantas T1 seleccionadas se realizó mediante PCR con dos parejas de cebadores específicos que amplifican un fragmento del promotor 35S, un fragmento del terminador Tnos o un fragmento del gen ROLD. El análisis de la presencia de fragmentos del esqueleto del vector se realizó mediante PCR con dos parejas de cebadores específicos que amplifican dos regiones del vector adyacentes a los bordes derecho e izquierdo del T-DNA.

Generación de líneas T2. La generación T2 se obtuvo mediante autopolinización de líneas T1 seleccionadas, libres de T-DNA.

Generación de líneas T3. La generación T3 se obtuvo a partir de una línea T2 libre de T-DNA por autofecundación de la misma.

Generación de líneas T4. La generación T4 para la que se solicita esta autorización se ha obtenido a partir de una línea T3 por autofecundación de la misma.

Identificación de las mutaciones presentes en las líneas objeto de la liberación. La caracterización de las mutaciones presentes en las líneas T1 y T2 se ha realizado mediante

amplificación por PCR de las regiones diana de los gRNAs y la posterior secuenciación del amplicón obtenido.

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 procede.

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 esta liberación es determinar las condiciones óptimas de crecimiento en campo de la línea editada para su uso como planta biofactoría de anatabina.

2. Localización geográfica del lugar de la liberación.

Finca Sinyent, Poliñá de Júcar (Polinyà de Xúquer), Valencia

3. Área del lugar (m²).

2500 m²

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.

No procede.

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.

Las mutaciones introducidas en las plantas de tabaco objeto de este ensayo no aumentan la capacidad de supervivencia de las plantas modificadas ni le confieren ninguna otra ventaja selectiva. Es más, el reducido contenido de nicotina podría resultar en una mayor susceptibilidad en caso de verse la plantación afectada por hervíboros. Tampoco se deriva de las plantas editadas ningún riesgo para la salud humana distinto de los que presentan las plantas de tabaco convencional.

Con respecto al potencial de transferencia de genes a otras plantas, en la región de la Comunidad Valenciana está presente la especie *Nicotiana glauca* Graham. Sin embargo, esta especie no cuenta con polinizadores naturales en la región y su reproducción tiene lugar mediante autofecundación. Es posible, la polinización cruzada de las plantas modificadas con cultivos comerciales de tabaco. Las medidas de control de riesgo descritas en la sección siguiente sin embargo, eliminan el riesgo de transferencia.

En este ensayo se utilizarán las mismas técnicas de cultivo, gestión y cosecha que en la producción de tabaco con fines comerciales, por lo que su impacto ambiental no diferirá del de este.

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.

Se adoptarán las siguientes medidas:

- El traslado de las semillas desde el laboratorio al lugar de liberación se realizará en tubos debidamente sellados e identificados.
- Las plantas de tabaco modificadas se despuntarán antes de la apertura del botón floral de la inflorescencia apical y se realizará un tratamiento de control de brotes para evitar la aparición de nuevas inflorescencias, removiéndose manualmente los brotes que resistan al tratamiento. De esta forma se impide la formación tanto de polen como de semillas lo que evita el riesgo de dispersión de las plantas modificadas.
- En la Comunidad Valenciana no se conoce de producciones comerciales de tabaco, concentrándose el 98% de la producción en Extremadura (Norte de Cáceres). Así, aun en el hipotético caso de producción de polen, no existe riesgo de polinización cruzada.
- El ensayo será monitorizado regularmente (con una frecuencia mínima semanal) por personal de AVA para registrar cualquier efecto adverso inesperado sobre el medio ambiente que será notificado a la autoridad competente.
- Para evitar el posible rebrote de restos vegetales 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 además un seguimiento de la parcela durante el año siguiente a la liberación para controlar y, en su caso eliminar, potenciales rebrotes.

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 procede.