

PARTE 2 (DECISIÓN DEL CONSEJO 2002/813/CE)

MODELO DE INFORMACIÓN DEL RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN (SNIF)
PARA LA LIBERACIÓN DE PLANTAS SUPERIORES MODIFICADAS
GENÉTICAMENTE (PSMG)
(ANGIOSPERMAE AND GYMNOSPERMAE)

A. *INFORMACIÓN GENERAL*

1. *Detalles de la notificación*

(c) (a) Número de notificación:	B/ES/06/43
(d) (b) Fecha de reconocimiento de la notificación:	
(e) Título del proyecto:	Liberación de citrange Carrizo transgénico que sobreexpresa un gen precursor de GA 20-oxidasa en sentido o en antisentido para investigar la modificación de la arquitectura de las plantas, su floración y fructificación, y el potencial carácter modulador del desarrollo de una variedad no transgénica injertada sobre el mismo.
(f) (d) Periodo de liberación propuesto:	Primavera de 2007 a primavera de 2017.

2. *Notificador*

(g) (a) Nombre del instituto o compañía:
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Generalitat Valenciana.

3. *¿Esta planificada la comercialización de la misma PSMG en otra zona, dentro o fuera de la Comunidad [según el Artículo 6(1)] por el mismo notificador?*

Si <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indicar los códigos del país o países:	

4. *¿Se ha notificado la comercialización de la misma PSMG en alguna zona dentro o fuera de la Comunidad, por el mismo notificador?*

Si <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
(h)	

B. INFORMACIÓN DE LA PLANTA MODIFICADA GENÉTICAMENTE

1. Nombre completo

(i) (a) Familia	Rutaceae
(j) (b) Género	<i>Citrus X Poncirus</i>
(k) (c) Especie	Citrango. Híbrido entre <i>Citrus sinensis</i> L. Osb. X <i>Poncirus trifoliata</i> L. Raf.
(l) (d) Subespecie	
(m) (e) Cultivar/línea de reproducción	Citrango Carrizo
(n) (f) Nombre común	Citrango Carrizo

2. Descripción del carácter y características que se han sido introducido o modificado

Se ha modificado el contenido endógeno de GA1 en las plantas. La GA1 es la giberelina activa que determina el tamaño de las plantas en cítricos. Como consecuencia de ello, se ha modificado la arquitectura de las plantas transgénicas.

A todas las líneas transgénicas (sentido, antisentido y control) se les ha introducido resistencia a kanamicina.

3. Tipo de modificación genética

<u>Inserción de material genético</u>
(b) Delección del material genético
(c) Sustitución de bases
(d) Fusión celular
(e) Otras, especificidad

4. En el caso de inserción de material genético, describir el origen y la función de cada componente del fragmento de ADN insertado

Módulo *NOSpro:: nptII:: NOSter*: 1758 nucleótidos. El gen *nptII* procede del transposón Tn5 de *E. coli*. Las regiones *NOS*, moduladoras de la expresión de *nptII*, proceden del gen de la nopalina sintasa (*NOS*) de *A. tumefaciens*. La expresión del transgén en las células

les confiere resistencia a antibióticos aminoglicósidos como la kanamicina, la geneticina o la paromomicina. Este módulo se encuentra en el T-DNA de pBin 19 (acceso n° U09365 en GenBank).

Módulo *35Spro 2X::CcGA 20-oxi1* sentido ó antisentido:: *35Ster*: 747, 1200 y 735 nucleótidos, respectivamente. Las regiones promotora y terminadora proceden del gen 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV) y confieren expresión prácticamente constitutiva del transgén en las células transformadas. El transgén *CcGA 20-oxi1* procede de citrange Carrizo, concretamente de *Poncirus trifoliata*. Su expresión en sentido y la consiguiente acumulación a altos niveles del producto proteico incrementa el contenido endógeno de GA1 en las plantas transgénicas y como consecuencia de ello muestran un crecimiento elongado cuando se comparan con los controles. Por el contrario, su expresión en antisentido hace que el contenido endógeno de GA1 sea menor y con ello las plantas transgénicas presentan un tamaño reducido, con brotaciones más cortas que los controles transformados con el vector vacío (pBin19).

5. *En caso de delección u otra modificación de material genético, indicar la función de las secuencias suprimidas o modificadas*

6. *Breve descripción de los métodos usados para la modificación genética*

Cocultivo de segmentos de epicotilo de citrange Carrizo con la cepa desarmada EHA 105 de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* y regeneración de plantas enteras a partir de las células transformadas en los explantes mediante cultivo in vitro en los medios apropiados, inductores de organogénesis.

7. *Si la planta parental es una especie forestal arbórea, describir las vías y extensión de la diseminación y los factores específicos que la afectan.*

No procede.

C. INFORMACIÓN SOBRE LA LIBERACIÓN EXPERIMENTAL

1. *Objetivos de la liberación (incluyendo cualquier información relevante disponible en este estadio) como objetivos agronómicos, test de hibridación, cambios en la supervivencia o en la diseminación, test de efectos en organismos objetivo y no-objetivo*

Liberación de citrange Carrizo transgénico que sobreexpresa un gen precursor de GA 20-oxidasa en sentido o en antisentido para investigar:
- la modificación de la arquitectura de las plantas en condiciones de campo. Para ello se

plantarán 4 líneas antisentido (5A-8A, 5A-4, 5A-10 y 5A-33) y 3 líneas sentido (8S-8A, 8S-22 y 8S-23), más 1 línea control (CT-81A; vector vacío) (1 ejemplar de cada línea).

- su floración y fructificación; en los mismos árboles descritos en el primer objetivo.
- el potencial carácter modulador del desarrollo de una variedad no transgénica injertada sobre el mismo. Para ello se plantarán entre 8 y 13 estaquillas de las líneas: 5A-8A, 5A-4, 5A-10 y 5A-33, 8S-8A, 8S-22 y 8S-23, CT-81A y citrange Carrizo control no transgénico. Sobre todas ellas se injertará clementino Clementules no transgénico. Se investigará la posible variación del porte de los árboles, sus características fenológicas y la producción y calidad de la fruta.

2. Localización geográfica del lugar de la liberación

Finca experimental del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), localizado en el término municipal de Moncada, provincia de Valencia. La parcela del ensayo está a más de 100 m de distancia de plantaciones comerciales. El lugar de la liberación se encuentra en la parcela 1, marcada como un rectángulo gris con trazo grueso en el plano adjunto.

3. Tamaño del sitio (m²)

Tendrá una extensión de unos 1000 m²

4. Datos relevantes en cuanto a liberaciones anteriores llevadas a cabo con la misma planta genéticamente modificada, si existen, específicamente relacionados con los posibles impactos en el medio ambiente y la salud humana

Notificación B/ES/96/15. El ensayo tiene una superficie total de 1638 m². Contiene un total de 130 árboles, que incluyen 16 plantas transgénicas de naranjo Pineapple, 16 de lima Mexicana y 16 de citrange Carrizo, más los testigos no transgénicos de las mismas especies y las plantas borde de clementino de Nules. Se ha introducido en las plantas los genes marcadores *nptII* y *uidA* (GUS), que codifican las enzimas neomicina fosfotransferasa II y β -glucuronidasa, respectivamente.

Se está investigando los caracteres morfológicos y fenológicos de los árboles, la calidad de la fruta producida, la expresión de los transgenes en hojas, flores y frutos, la estabilidad de la integración y expresión de los transgenes en las plantas, la transmisión de los transgenes a la progenie y la posibilidad de dispersión de los transgenes a través del polen de las plantas transgénicas a los árboles de Clementules que bordean la parcela.

Se ha evaluado todos los años desde 2001 el número de semillas que expresan uno de los transgenes marcadores (*uidA*) del total de semillas que produce la fruta de los árboles de Clementules. Los resultados se muestran a continuación:

Año	Nº de semillas analizadas	Nº de frutos analizados	Nº de semillas GUS-positivas	% de semillas GUS- positivas
2001	2990	378	5	0.17 %
2002	1359	1119	13	0.96 %
2003	2171	810	9	0.41 %
2004	603	750	5	0.67 %
2005	2619	560	75	2.9 %

Dado que los árboles de Clemenules no transgénico están muy próximos a los árboles transgénicos, nuestros resultados revelan que las posibilidades de dispersión de transgenes por polen a árboles de otras parcelas son muy bajas en nuestras condiciones.

D. RESUMEN DEL POSIBLE IMPACTO AMBIENTAL DEBIDO A LA LIBERACIÓN DE LA PSMG DE ACUERDO CON EL APARTADO D2 DEL ANEXO II DE LA DIRECTIVA 2001/18/EC

Observe sobre todo si los rasgos presentados directa o indirectamente pudieran conferir una ventaja selectiva en ambientes naturales; explicar también cualquier ventaja significativa esperada en el medio ambiente.

Los cítricos comerciales se reproducen vegetativamente en viveros especializados mediante injerto de variedades bien conocidas sobre portainjertos también bien conocidos. En nuestras condiciones y teniendo en cuenta las especies con las que trabajamos, no hay posibilidad de que las plantas transgénicas se establezcan en campo como mala hierba.

En la zona se cultivan cítricos que son sexualmente compatibles con las plantas transgénicas. No existen plantas silvestres compatibles en Europa.

En condiciones naturales, cabe la posibilidad de que se dé polinización cruzada entre dos especies (o híbridos) sexualmente compatibles. La polinización cruzada en cítricos cultivados es exclusivamente entomófila y se produce casi exclusivamente por abejas. En la época de floración existen normas legales dictadas por la Generalidad Valenciana que prohíben la localización de colmenas de abejas en un radio inferior a 5 km. de cualquier plantación de clementinos. Además, está permitido el tratamiento contra abejas en este período. Estas medidas se adoptaron para evitar la polinización cruzada, que provoca la aparición de semillas en algunas variedades. La presencia de semillas reduce drásticamente el valor de la fruta. Los cítricos producen habitualmente frutas sin semillas de forma partenocárpica. En los alrededores del IVIA, son frecuentes las parcelas de cultivo de clementinos. Por lo tanto, ni en el IVIA ni en los alrededores hay colmenas, lo cual reduce extraordinariamente las posibilidades de que se dé polinización cruzada. Además, se harán los tratamientos legalmente permitidos para disminuir el riesgo de polinización. En el caso hipotético de que se transfirieran los transgenes a otras plantas por polinización, estos sólo se expresarían en las semillas, que no son comestibles.

Las variedades de cítricos no se reproducen por semilla. En el caso hipotético de que apareciesen plántulas germinadas a partir de semilla en un huerto, serían arrancadas por los agricultores al realizar las prácticas de cultivo habituales. Además, estas plántulas no llegarían a florecer ya que el periodo juvenil de los cítricos es de varios años.

E. BREVE DESCRIPCIÓN DE CUALQUIER MEDIDA TOMADA POR EL NOTIFICADOR PARA EL CONTROL DEL RIESGO

La parcela se está preparando de acuerdo con las prácticas habituales del cultivo de los cítricos. Los árboles previamente existentes se han arrancado, se han eliminado todos sus restos (incluyendo raíces), se han efectuado varias labores de preparación del terreno, se ha nivelado por medio de sistema láser y se han instalado tuberías para riego por goteo. Se utilizarán las prácticas habituales de cultivo, eliminando las malas hierbas por sistema combinado de escarda química y mecánica.

Se plantarán 4 líneas antisentido (5A-8A, 5A-4, 5A-10 y 5A-33) y 3 líneas sentido (8S-8A, 8S-22 y 8S-23), más 1 línea control (CT-81A; vector vacío) (1 ejemplar de cada línea).

Para el objetivo 3, se plantarán entre 8 y 13 estaquillas de las líneas: 5A-8A, 5A-4, 5A-10 y 5A-33, 8S-8A, 8S-22 y 8S-23, CT-81A y citrange Carrizo control no transgénico. Sobre todas ellas se injertará Clemenules no transgénico.

En total habrá unos 90 árboles en la parcela.

Dado que en la mayoría de los árboles sólo el portainjertos será transgénico y que los 6 árboles de citrange Carrizo transgénico no injertado se dispondrán hacia el centro de la parcela, se favorecerá que en todo caso el polen de los árboles de citrange Carrizo fuera a parar a flores de alguno de los más de 80 árboles de Clemenules injertados sobre citrange Carrizo transgénico que están rodeando a los anteriores.

Todos los restos desechables procedentes del cultivo de los árboles transgénicos (plantas transgénicas enteras, restos de poda, fruta, etc.) se quemarán en el quemador/incinerador del IVIA.

F. RESUMEN DE LOS ENSAYOS PLANEADOS DE CAMPO DESIGNADOS PARA OBTENER NUEVOS DATOS ACERCA DEL IMPACTO SOBRE A SALUD HUMANA Y AMBIENTAL DE LA LIBERACIÓN (DONDE SEA APROPIADO)

La frecuencia de dispersión por polen se está evaluando desde hace varios años en la parcela con n° de notificación B/ES/96/15.

No se prevé ningún experimento de posible impacto sobre la salud humana ya que ésta no es la finalidad de nuestras investigaciones por el momento.