

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/08/21
(d) (b) Fecha de reconocimiento de la notificación:	
(e) Título del proyecto:	Liberación de citrangeros transgénicos que sobreexpresan genes de floración de <i>Arabidopsis thaliana</i> para investigar la modificación del crecimiento de los árboles y del desarrollo floral y del fruto.
(f) (d) Periodo de liberación propuesto:	Primavera de 2008 a primavera de 2018.

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

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

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

Se han sobre-expresado los genes de identidad de meristemas floral *APETALA 1 (API)*, *SUPPRESSOR OF CONSTANS 1 (SOC1)* y *FLOWERING LOCUS T (FT)* de *Arabidopsis thaliana* en citrange Carrizo y con ello se ha conseguido inducir floración rápida en las plantas transgénicas y en sus progenies con lo que se logrado generar cítricos de ciclo corto. Pretendemos ahora investigar si la sobre-expresión de dichos transgenes afecta al crecimiento y desarrollo de las plantas cultivadas en campo.

A todas las líneas transgénicas se les ha introducido resistencia a kanamicina. Todas las líneas transgénicas codifican la enzima  $\beta$ -glucuronidasa.

### 3. Tipo de modificación genética

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

### 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.

Módulo *35Spro::uidA::35SpA*: 2800 nucleótidos. El gen *uidA* procede de *E. coli*. Las regiones promotora y terminadora proceden del gen 35S del virus CaMV, y confieren expresión prácticamente constitutiva del transgén en las células transformadas. El gen *uidA* está interrumpido por el intrón IV2 de modo que dicho gen sólo se pueda expresar en un entorno eucariota. La expresión del transgén que codifica la enzima  $\beta$ -glucuronidasa tiñe las células transformadas de color azul cuando se les añade el sustrato apropiado (X-Gluc; ácido 5-bromo-4-cloro-3-indoxil- $\beta$ -glucurónico) y por tanto se utiliza como delator.

Módulo *35Spro::API::NOSter*: 870, 1054 y 275 nucleótidos, respectivamente.

Módulo *35Spro::FT::NOSter*: 870, 864 y 275 nucleótidos, respectivamente.

Módulo *35Spro::SOC1::NOSter*: 870, 1320 y 275 nucleótidos, respectivamente.

La región promotora procede del gen 35S del virus CaMV y la región terminadora procede del gen *NOS* de *A. tumefaciens*, que confieren expresión prácticamente constitutiva del transgén en las células transformadas. Los transgenes *APETALA 1 (API)*, *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 (SOC1)* y *FLOWERING LOCUS T (FT)* proceden de *Arabidopsis thaliana*. Su sobre-expresión en citrange Carrizo induce floración rápida en las plantas transgénicas y en sus progenies con lo que se logrado generar cítricos de ciclo corto. *API* se ha incorporado también en naranjo dulce Pineapple y se ha conseguido el mismo efecto de floración rápida.

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

No procede

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 naranjo y citrange transgénicos que sobreexpresan genes de floración de *Arabidopsis thaliana* para investigar:

- 1) La posible modificación del crecimiento de los árboles al producir mucha floración.
- 2) La posible modificación del desarrollo floral y del fruto.
- 3) La posible modificación del tiempo de floración de citranges no transgénicos injertados sobre los citranges transgénicos.

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

Finca experimental del Servicio de Transferencia Agraria (STA) del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), localizado en el término municipal de Villareal, provincia de Castellón. La parcela del ensayo está a varios kilómetros de distancia de plantaciones comerciales y tendrá una extensión de unos 7500 m<sup>2</sup> para realizar distintos experimentos de liberación de cítricos transgénicos.

3. **Tamaño del sitio (m<sup>2</sup>)**

Tendrá una extensión de unos 7500 m<sup>2</sup> en total para cinco ensayos de liberación entre los que se incluye éste (B/ES/08/02, B/ES/08/03, B/ES/08/04, B/ES/08/05 y éste). Este ensayo ocupará 500 m<sup>2</sup> aproximadamente en la parte central de la parcela.

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**

No procede

### **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 STA del IVIA en Villareal hay un polígono industrial, lo cual reduce extraordinariamente las posibilidades de que se dé polinización cruzada con árboles de fincas comerciales, ya que las más próximas se encuentran a varios kilómetros de distancia. 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 y se ha nivelado por medio de sistema láser. Se utilizarán las prácticas habituales de cultivo, eliminando las malas hierbas por sistema combinado de escarda química y mecánica. Se plantarán 5 propagaciones de cada una de las líneas transgénicas de citrange Carrizo: AP1 13.5, AP1 13.20, FT 12, FT 14b, FT 24, FT 65, FT 5, FT 7, SOC1 25, SOC1 46a, SOC1 48b, SOC1 67b y SOC1 49 más 5 propagaciones de citrange Carrizo control. La disposición será de árboles al azar. En total habrá 75 árboles agrupados en uno de los cuadrantes de la parcela.

Rodeando a la parcela en que se pretende hacer éste y otros tres experimentos más de liberación de cítricos transgénicos se dispondrá una línea cordón control de árboles de clementino Clementules injertados sobre citrange Carrizo, que servirá de tampón para investigar la frecuencia de flujo génico a través del polen en la parcela.

Todos los restos desechables procedentes del cultivo de los árboles transgénicos (plantas transgénicas enteras, restos de poda, fruta, etc.) se quemarán en alguno de los dos quemadores que se están construyendo en el interior de la parcela.

**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 nº 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.