

---

## LA SELECCIÓN NATURAL Y LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS: ¿UN HIATO DARWINISTA?

### Natural Selection and Transgenic Crops: A Darwinian Hiatus?

ALEJANDRO CHAPARRO-GIRALDO<sup>1</sup>, Ph. D.

<sup>1</sup> Profesor Asociado, Departamento de Biología e Instituto de Genética,  
Universidad Nacional de Colombia. Director del Grupo de Ingeniería  
Genética de Plantas. achaparro@bt.unal.edu.co

Presentado 23 octubre de 2009, aceptado 9 diciembre de 2009, correcciones 19 de mayo de 2010.

#### RESUMEN

En diciembre de 2008, se reportaron 125 millones de hectáreas de variedades transgénicas de soya, maíz, algodón y canola, sembradas en 23 países de los cinco continentes. Estas variedades fueron transformadas con genes de origen procarionte, que les confieren la capacidad de resistir el ataque de insectos lepidópteros o tolerar dosis comerciales de herbicidas. Desde el inicio de la ingeniería genética, se ha planteado la pregunta de si estos organismos, liberados de manera masiva en los agroecosistemas, pueden causar efectos ambientales negativos en el mediano plazo, o efectos evolutivos desastrosos en el largo plazo. Una manera de analizar este problema, es considerar si pueden escapar a la selección natural darwinista, por el hecho de haberse introducido genes foráneos mediante manipulación humana. Para ello, se estudia la literatura disponible sobre el flujo de genes, desde los cultivos modificados hacia sus parientes silvestres estrechamente relacionados. Existe evidencia empírica de la hibridación entre materiales mejorados por métodos convencionales (hibridación, retrocruces, selección) o biotecnológicos (transferencia de genes foráneos) y parientes silvestres estrechamente relacionados. En todo caso, los efectos de estas hibridaciones dependen de la interacción entre el gen transferido y la planta silvestre pariente de la planta hospedera, en el ecosistema particular en que ocurra. El mayor efecto ambiental y evolutivo, es el resultado de la introgresión del transgen en el pariente silvestre, proceso que implica la estabilización del transgen en el genoma hospedero, resultado de sucesivas generaciones de hibridación y retrocruce. La introgresión depende más de la naturaleza del gen, y del lugar que ocupa en el genoma donante, que del mecanismo de introducción en dicho parental. No se han reportado efectos negativos sobre la diversidad genética de las especies transformadas, ni sobre el ambiente o los consumidores. En el contexto de la evidencia analizada, parecería que los cultivos transgénicos no escapan a la selección natural darwinista, sin embargo es muy temprano en términos evolutivos para llegar a una conclusión sobre este asunto.

**Palabras clave:** cultivos transgénicos, selección natural, flujo de genes, tolerancia a herbicidas, resistencia a insectos.

#### ABSTRACT

In December 2008, 125 million hectares of transgenic varieties of soybean, corn, cotton and canola, were reported planted in 23 countries on five continents. These varieties were transformed with genes of prokaryote origin, rendering them resistant to lepidopteran insects attack or

tolerant to commercial herbicides. Since the beginning of genetic engineering, the question whether mass release of these crops in agroecosystems, can cause either negative environmental effects in the medium term or evolutionary effects in the long term, has been raised. One way of analyzing this problem is to consider whether they can escape Darwinian natural selection, because foreign genes have been introduced through human manipulation. To this end, I study the available literature on gene flow from modified crops to their wild closely related relatives. There is empirical evidence of hybridization between improved materials, by both conventional methods (hybridization, backcross, selections) and biotechnological (transfer of foreign genes), and closely related wild relatives. In any case, the effects of these hybrids depend on the interaction between the transferred gene and the wild relative, the particular ecosystem in which it occurs. The biggest environmental and evolutionary impact is the result of introgression of a transgene in the wild relative, a process that involves stabilization of the transgene in the host genome, as a result of successive generations of hybridization and backcrossing. The introgression depends more upon the nature of the gene and its localization in the donor's genome, than on the mechanism of introduction. No negative effects on the genetic diversity of species genetically modified, have been reported, neither on the environment or consumers. In the context of the evidence discussed, it appears as if genetic modified crops do not escape Darwinian natural selection, however it is very early in evolutionary terms to reach a conclusion on this matter.

**Key words:** transgenic crops, natural selection, gene flow, herbicide tolerance, insect resistance.

## INTRODUCCIÓN

Darwin propuso el concepto de selección natural partiendo de la siguiente idea:

Existen organismos que se reproducen y la progenie hereda características de sus progenitores, existen variaciones de características si el medio ambiente no admite a todos los miembros de una población en crecimiento. Entonces aquellos miembros de la población con características menos adaptadas (según lo determine su medio ambiente) morirán con mayor probabilidad, y los miembros con características mejor adaptadas sobrevivirán con mayor probabilidad Darwin, 2001.

Los cultivos transgénicos, producto de la tecnología del ADN recombinante, son organismos vegetales a los que se ha introducido genes de otro origen biológico. Los dos productos comerciales usados actualmente, son los cultivos con resistencia a insectos (RI) y los cultivos con tolerancia a herbicidas (TH). Los primeros son el resultado de introducir al genoma del maíz, algodón o canola, genes provenientes de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, que confieren resistencia a insectos lepidópteros. Los segundos resultan de la transferencia de un gen de *Agrobacterium tumefaciens*, que confiere tolerancia al herbicida glifosato, al genoma de los cultivos mencionados y de la soya. Este tipo de cultivos se siembran en 125 millones de hectáreas y 23 países (James, 2008), constituyendo un escenario biológico relevante.

Hiato es la secuencia de dos vocales que se separan en sílabas distintas. Como ejemplos se pueden citar: pa-ís, ba-úl, re-í, o-í. Entonces, el hiato da la idea de separación entre dos elementos, que sin embargo continúan unidos. Tal es la figura de sílabas que se separan, pero están de hecho unidas en una palabra. En el contexto del presente escrito, la cuestión es: siendo los cultivos transgénicos resultado de una transferencia artificial de genes, dependiente de la especie humana, estos organismos y sus descendientes, progenies o híbridos, ¿pueden escapar a la selección natural darwinista?

A pesar de ser una tecnología novísima en términos históricos, dado que apenas se aplica comercialmente desde 1996, por lo que sus efectos evolutivos no son aún medibles, si se han producido resultados de investigación que arriesgan una respuesta a esta pregunta. En particular, en este capítulo se seguirá la literatura disponible en relación con el debate sobre el flujo vertical de genes, desde plantas transformadas hacia especies relacionadas, y sus efectos ambientales potenciales. Se considerará tanto el momento de hibridación, cuando los transgenes se colocan en el genoma de un pariente silvestre, vía polinización, como el momento de introgresión, cuando los transgenes presentes en un híbrido, se estabilizan en el genoma hospedero, vía múltiples generaciones híbridas y de retrocruces. El modelo que se va a analizar son los cultivos transgénicos liberados comercialmente: soya, maíz, algodón y canola, RI y TH.

La aproximación que se intenta en este escrito, puede calificarse de generalista, dado que el autor no es un especialista en evolución, sino en biotecnología molecular, que se ha encontrado con preguntas sobre problemas evolutivos, como resultado de su actividad académica.

#### CULTIVOS TRANSGÉNICOS

Mediante los instrumentos y técnicas moleculares disponibles actualmente, es posible aislar genes de cualquier tipo de organismo (procariote, eucariote, o virus), introducirlo dentro de un casete de expresión (Fig.1), con su región promotora y terminadora correspondiente, introducir este casete en un vector plásmidico y transferir el conjunto al genoma de una especie vegetal o animal, para producir un organismo transgénico. Incluso es posible diseñar el casete de expresión completo, región promotora - gen - región terminadora, a partir de la información contenida en bases de datos, mediante herramientas de bioinformática, y luego contratar el servicio de una empresa especializada, que sintetiza el casete y lo introduce en un vector de transformación.



Figura 1. Ejemplo de casete de expresión. pPatatina, promotor específico del tubérculo de papa; *Cry*, gen derivado de *B. thuringiensis*; t35S, región terminadora derivada de un gen del virus del mosaico del coliflor.

Las técnicas que se han utilizado en la producción comercial de plantas transgénicas, son la pistola de genes y *Agrobacterium tumefaciens*. El primero es un método directo, que usa microproyectiles de oro o tungsteno, impulsados por gas helio y direccionados a un tejido blanco. Sobre los microproyectiles se ubican los plásmidos que contienen el casete de expresión de interés. El segundo es un método indirecto, basado en una bacteria patógena que desarrolla el proceso de infección, mediante la transferencia de un segmento de un plásmido inductor de tumores, segmento denominado T-DNA, mediante la acción de varias decenas de genes ubicados en la región VIR, o región de virulencia. Esta bacteria es un ingeniero genético natural. Para usarlo como vector de transformación, se ubica en el T-DNA el casete de expresión de interés. Así, la bacteria dirige naturalmente la construcción de DNA recombinante, hacía el genoma de las células de la especie que se quiere transformar. En los dos métodos, inicialmente se obtienen células transformadas, a partir de las cuales y mediante el uso de técnicas de cultivos *in vitro*, se regenera una plántula completa. Se utiliza un truco para que este proceso se dé a partir de células transformadas, y es usar un gen marcador de selección, que confiere la habilidad de tolerar concentraciones de antibióticos o herbicidas. Este gen se localiza dentro del casete de expresión.

Posteriormente, las plántulas potencialmente transgénicas son caracterizadas molecularmente, determinando el número de copias del transgen, y los niveles de expresión a nivel de RNA

mensajero y proteína. Luego son sometidas a ensayos biológicos para estudiar el fenotipo, es decir, determinar si son realmente resistentes a insectos o a herbicidas, cual es el nivel de esa resistencia y contra que tipo de organismos o agentes activos. Finalmente, se realizan detallados estudios de bioseguridad, para analizar posibles efectos negativos en el ambiente o en los organismos que vayan a alimentarse con ese producto. Si se comprueba que no tiene efectos perjudiciales sobre el ambiente, sobre las personas o los animales que los consuman, se acepta su liberación comercial.

Según el informe anual sobre cultivos transgénicos del *The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications*, ISAAA (James, 2008), las siguientes son las cifras correspondientes al año 2008. Se cultivaron 125 millones de hectáreas en 25 países por 13,3 millones de agricultores, 90% de los cuales son agricultores pequeños y pobres de los países en desarrollo. El valor global de las semillas transgénicas fue de 7.500 millones de dólares. Por cultivo, soya es el principal con 65,8 millones de hectáreas (MH), seguido de maíz con 37,3 MH, algodón con 15,5 MH y canola con 5,9 MH. La principal característica es la tolerancia a herbicidas con 79 MH, seguida de eventos combinados con 26,9 MH, y resistencia a insectos con 19,9 MH. Los eventos combinados se refieren a cuando en una misma planta se concentran características transgénicas, tolerancia a herbicidas y resistencia a insectos. Para el año 2010 se espera que se libere maíz Smartstax™ con ocho genes que codifican varios eventos de resistencia a plagas y tolerancia a herbicidas. El grado de adopción de la tecnología, se puede observar en el porcentaje de transgénicos en relación con el área total mundial del cultivo: soya 53%, maíz 30%, algodón 10%, canola 5%. En la tabla 1, se presenta la lista de los países donde se cultivan transgénicos, con las áreas y las especies respectivas.

En Colombia, según datos publicados por Agrobio, 2009, se cultivaron 27.671 hectáreas en el año 2008, en los departamentos de Sucre, Córdoba, Cesar, Tolima, Huila, Valle del Cauca y Meta. En estas regiones se cultivaron maíz y algodón, resistente a insectos lepidópteros, tolerantes a herbicidas y combinando las dos características. En el departamento de Cundinamarca, se cultivaron cerca de cuatro hectáreas de clavel azul.

Los cultivos TH comerciales, son tolerantes al herbicida glifosato que inactiva la enzima EPSPS, clave en la vía del shikimato, vía localizada en el cloroplasto y cuyo producto son aminoácidos aromáticos. El herbicida puede transportarse dentro de la planta, siguiendo la ruta de los haces vasculares. El resultado es el bloqueo del metabolismo celular, afectando completamente a la planta. El principal tipo de cultivo transgénico, se basa en el gen CP4 aislado de *A. tumefaciens* que codifica para una enzima EPSPS tolerante al herbicida. Así la planta es capaz de tolerar la aplicación de dosis comerciales de herbicidas basados en glifosato (Padgett *et al.*, 1995).

Los cultivos RI, se producen por la transferencia de genes derivados de la bacteria *Bacillus thuringiensis*. Esta bacteria ha sido usada en el control biológico de insectos desde 1938. Su efecto se fundamenta en genes que codifican para proteínas cristalinas, que en condiciones del intestino medio de las larvas, liberan endotoxinas, las cuales causan poros en las células epiteliales, seguido de septicemia aguda, lo cual lleva a su muerte. Los genes se han denominado cry porque su producto inicial son las proteínas cristalinas, y son específicos para grupos de insectos, algunos solo afectan a lepidópteros, otros solo afectan a coleópteros. En los cultivos transgénicos comerciales se han usado unos pocos tipos de genes cry, que confieren resistencia a especies de insectos lepidópteros (Stewart *et al.*, 2001).

Los países en desarrollo más importantes han decidido apostar al impulso de sus propios cultivos transgénicos. China aprobó un fondo de 3.500 millones de dólares adicionales para investigación, India va a realizar una inversión pública de 300 millones de dólares, mientras la EMBRAPA brasilera tiene avanzado el proceso de aprobación de varios productos transgénicos propios. Ya se produjo el primer algodón RI desarrollado en China y comercializado en India (James, 2008).

Puesto	País	Superficie (millones de hectáreas)	Cultivos transgénicos
*1*	Estados Unidos*	62,5	Soya, maíz, algodón, canola, calabaza, papaya, alfalfa y remolacha azucarera.
*2*	Argentina*	21,0	Soya, maíz y algodón.
*3*	Brasil*	15,8	Soya, maíz y algodón.
*4*	India*	7,6	Algodón
*5*	Canadá*	7,6	Canola, maíz, soya y remolacha azucarera
*6*	China*	3,8	Algodón, tomate, álamo, petunia, papaya y pimiento dulce.
*7*	Paraguay*	2,7	Soya
*8*	Sudáfrica*	1,8	Maíz, soya y algodón.
*9*	Uruguay*	0,7	Soya y maíz.
10*	Bolivia*	0,6	Soya
11*	Filipinas*	0,4	Maíz
12*	Australia*	0,2	Algodón, canola y clavel.
13*	México*	0,1	Algodón y soya.
14**	España*	0,1	Maíz
15*	Chile	<0,1	Maíz, soya y canola.
16*	Colombia	<0,1	Algodón y clavel.
17*	Honduras	<0,1	Maíz
18*	Burkina Faso	<0,1	Algodón
19*	República Checa	<0,1	Maíz
20*	Rumania	<0,1	Maíz
21*	Portugal	<0,1	Maíz
22*	Alemania	<0,1	Maíz
23*	Polonia	<0,1	Maíz
24*	Eslovaquia	<0,1	Maíz
25	Egipto	<0,1	Maíz

Tabla 1. Superficie de cultivos transgénicos por países (Adaptado de James, 2008). \*14 megapaíses biotecnológicos con una superficie transgénica mínima de 50.000 ha.

Los beneficios económicos y ambientales, acumulados entre 1996 y 2006, según Brookes y Barfoot, 2008, son los siguientes: ganancias de 33,8 millones de dólares para los agricultores, disminución de 286 millones de kilogramos en la aplicación de pesticidas, disminución del 15,5% del impacto ambiental derivado del uso de insecticidas y herbicidas.

#### ¿SON ARTIFICIALES LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS?

Francois Jacob en su libro “El ratón, la mosca y el hombre” (Jacob, 1998) señala que la propia idea de que se pueda recoger genes de un organismo para insertarlo en otro, parece a muchos intolerable, la noción del DNA recombinante está ligada a lo misterioso y a lo sobrenatural, hace reaparecer el terror asociado al significado oculto de los monstruos, la repulsa que causa la idea de dos seres unidos contra natura. Esto lo refiere para preparar una crítica a los opositores de la tecnología transgénica. Los hallazgos novedosos en genómica ubican este debate en otro contexto. La idea de los organismos como espacios genéticos cerrados, se derrumba frente a la evidencia que el genoma de la especie humana es más del 99% similar al genoma del chimpancé, 70% al genoma del ratón, 60% al genoma de *Drosophila melanogaster* y 20% al genoma del nemátodo *Caenorhabditis. Elegans*. Lo que hace a la especie humana, está ampliamente distribuido en la naturaleza, y es un arcaísmo seguir hablando de genes humanos, cuando ese mismo gen puede estar presente en diferentes organismos que van de mamíferos a nemátodos, pasando por insectos y por plantas.

Por otra parte, se ha demostrado que cuando un transgen, es integrado como una copia simple en el genoma vegetal, su patrón de herencia corresponde a la herencia monohíbrida mendeliana clásica. Cuando los transgenes son integrados en copias múltiples, muestran patrones complejos de herencia, reducen los niveles de expresión y tienden a ser silenciados. Los fitomejoradores buscan patrones simples de herencia, alta expresión y evitan el silenciamiento génico. Como resultado, los materiales transgénicos que se han liberado y se buscan liberar, son cultivos con un bajo número de copias del transgen que muestran segregación mendeliana. La población vegetal con caracteres transgénicos, puede ser modelada usando datos y procedimientos similares a los usados por la genética clásica (Raybould y Gray, 1994). En análisis de segregación de 161 plantas transgénicas diferentes, 55% segregaron para una copia, 20% para dos copias, 6% para tres copias y 4 % para cuatro copias (Dale *et al.*, 1993).

La figura 2, muestra los resultados de la autofecundación de una planta que porta una copia de un gen que confiere tolerancia a un herbicida. Esa planta es hemicigota para la característica, dado que en un cromosoma se inserta una copia del transgen, mientras en el cromosoma homólogo, el locus correspondiente no existe, no hay presencia de tal inserción. Por ello se usan los signos + y - como superíndices en los genotipos, para denotar presencia o ausencia. Para efectos del análisis mendeliano se comportará como un heterocigoto típico. Así las cosas, la progenie resultante segregará como un monohíbrido mendeliano, tres individuos tolerantes por un individuo susceptible.

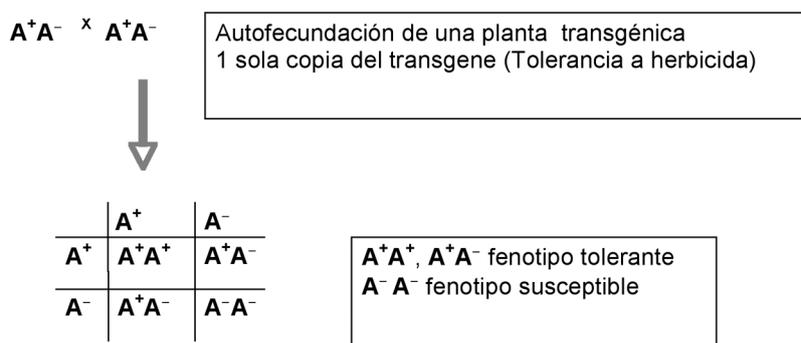


Figura 2. Análisis mendeliano de la autofecundación de una planta transgénica, que porta una copia del transgene que confiere tolerancia a un herbicida.

La Academia Nacional de Ciencias (NAS) y el Consejo Nacional de Investigación (NRC) de USA, en análisis independientes llegaron a la misma conclusión: no existe diferencia conceptual entre modificación genética de plantas y microorganismos por métodos clásicos o por técnicas moleculares que modifiquen DNA o transfieran genes (citado por Miller *et al.*, 1993), puesto que los fenotipos están determinados por la expresión génica y no por el método de introducción de los genes. Algunos afirman que los métodos basados en la manipulación del DNA son más precisos que los métodos convencionales y que sus resultados son más predecibles (Miller *et al.*, 1993). Para ello, se basan en la caracterización detallada del transgen, tanto a nivel de secuencia como a nivel de producto, y el conocimiento preciso del fenotipo de la planta transformada. Desconocen, sin embargo, los resultados de interacciones complejas entre el transgen y el ambiente cromosómico donde este se inserte, interacciones que pueden determinar efectos

pleiotrópicos o epistáticos cuyos resultados son impredecibles. Pero, a pesar que la inserción del transgen en el genoma vegetal parece ser al azar, observaciones empíricas sobre el material transgénico liberado, muestran muy poca evidencia de efectos pleiotrópicos y no es evidente que estos, cuando se presentan, tengan algún efecto genético adverso en el comportamiento de las plantas modificadas (Dale *et al.*, 1993).

Entonces, no es evidente que los principios que gobiernan la expresión transgénica y determinan la dispersión del transgen en poblaciones de plantas, sean esencialmente diferentes de aquellos que operan sobre genes nativos. Aunque los métodos moleculares permiten introducir muy diferentes clases de genes, los caracteres modificados en el cultivo, pueden tener el mismo comportamiento de los modificados por mejoramiento clásico mendeliano, por lo menos en relación con los caracteres introducidos (tolerancia a glifosato, resistencia a insectos lepidópteros) en los cultivos transgénicos usados comercialmente.

#### LA HIBRIDACIÓN ENTRE LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS Y SUS PARIENTES SILVESTRES

En los párrafos anteriores se presentó la información básica sobre los cultivos transgénicos, y se propuso una respuesta negativa a la cuestión de la artificialidad de los mismos. Queda entonces pendiente la siguiente pregunta: ¿son novedades biológicas absolutas que representan un nuevo y desconocido desafío a la selección natural darwinista? Una vía de respuesta es analizar la literatura disponible sobre efectos ambientales del flujo de genes desde cultivos transgénicos hacia especies relacionadas. Se tomó como modelo los cultivos liberados comercialmente, ya que el área física de aplicación (125 millones de hectáreas), tiene relevancia biológica y puede producir efectos ambientales inmediatos y efectos evolutivos en el largo plazo.

La extensión de la transferencia de genes hacia poblaciones silvestres depende de varios factores: las plantas cultivadas y las especies silvestres deben ser sexualmente compatibles, deben crecer juntas en el mismo lugar y florecer al mismo tiempo, además de existir un medio de transporte del polen de una hacia otra (Dale, 1992).

Se conoce que el flujo de genes y la hibridación son idiosincrásicos, y que varían con las poblaciones específicas implicadas. El flujo de genes ocurre normalmente a tasas y a distancias significativas. La hibridación espontánea de vez en cuando tiene consecuencias importantes, tales como el fomento de la evolución de especies invasoras agresivas y el aumento del riesgo de extinción de especies raras. Los mismos problemas se han producido por hibridación espontánea entre los cultivos y sus parientes silvestres. Estos resultados, pueden tener implicaciones para los cultivos transgénicos, puesto que: (a) para la mayoría de los cultivos, el flujo de genes puede servir para introducir genes modificados en las poblaciones silvestres, (b) en función del gen modificado específico y de las poblaciones involucradas, el flujo de genes puede tener los mismos efectos negativos encontrados en los cultivos mejorados convencionales; (c) la naturaleza del flujo de genes puede frustrar la gestión del control, y (d) el flujo de transgenes de cultivos intercalados, aunque rara vez se discute, es igualmente digno de estudio (Ellstrand, 2003).

Los cultivos transgénicos liberados comercialmente, no son estériles y por tanto no se ha bloqueado la interacción con poblaciones naturales de especies relacionadas, a través del flujo de polen. Así (Fig. 3), las plantas pueden establecer poblaciones naturales mediante el banco de semillas que permanece en el suelo, o mediante propágulos asexuales, según sea el caso. También los granos de polen transportados por agentes polinizadores (insectos, aves, agua, viento) desde los cultivos transgénicos, pueden fertilizar flores de parientes silvestres o variedades mejoradas de la misma especie, generando poblaciones híbridas (Chaparro-Giraldo, 2001). Estos eventos acontecen tanto para cultivos mejorados convencionalmente por técnicas mendelianas clásicas, como para cultivos transgénicos.

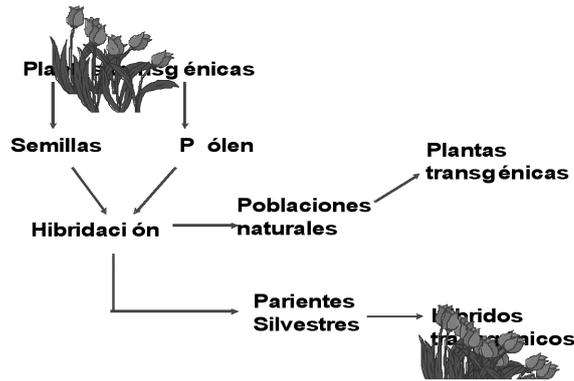


Figura 3. Flujo de genes desde cultivos transgénicos hacia parientes silvestres. Tomado de Chaparro-Giraldo, 2001.

El flujo de genes desde cultivos transgénicos hacia especies relacionadas ha sido ampliamente documentado. Híbridos transgénicos entre canola TH (*Brassica napus*) y *B. rapa* fueron reportados por Metz *et al.*, 1997, quienes encontraron que después de una sola generación de retrocruce (BC), muchas de las plantas de esta progenie fueron morfológica y citogenéticamente similares al parental silvestre. Halfhill *et al.*, 2002, informaron de poblaciones híbridas entre canola RI y *B. rapa*, reportando que los híbridos exhibieron una morfología intermedia entre los parentales. El transgen RI estuvo presente en los híbridos y la proteína insecticida fue sintetizada a niveles similares al correspondiente parental transgénico. Bioensayos con insectos, confirmaron que los híbridos presentaron características de resistencia a lepidópteros. Luego de dos generaciones de BC con el parental silvestre, los niveles de ploidía y la morfología de las plantas resultantes, fueron indistinguibles de *B. rapa*. Estos resultados fueron confirmados por Wilkinson *et al.*, 2003, que estimaron que 32.000 híbridos entre *B. napus* convencional y *B. rapa* se forman anualmente en Inglaterra, estimación realizada sobre una combinación de datos que incluyó estudios de genética de poblaciones, monitoreo remoto, perfiles de dispersión de polen, datos de herbarios y flora local, y otras bases de datos florísticas.

Yoshimura *et al.*, 2006, reportaron que tras un estudio de cuatro años en el Japón sobre soya TH cultivada junto a soya convencional, la tasa máxima de flujo de genes fue de 0,19% a 0,7 m, la tasa mínima fue de 0,052% a una distancia de 2,1 m. Ray *et al.*, 2003, realizaron dos experimentos de flujo de genes con variedades de soya convencionales, usando el color de la flor como marcador (púrpura dominante sobre blanco), encontrando tasas máximas de 0,41% a 0,9 m y tasas mínimas de 0,03% a 5 y 4 m de la fuente de polen. Desde luego estos resultados se explican en que la soya cultivada es una especie prevalentemente autógama.

Varias estrategias pueden suprimir la hibridación entre cultivos transgénicos y especies silvestres, incluyendo aislamiento físico (Waines y Hedge, 2003), esterilidad masculina (Rosellini *et al.*, 2001), sitios seguros de integración (Metz *et al.*, 1997), sistemas moleculares de control (Zuo y Chua, 2000) y transformación de cloroplastos. En el caso de semillas certificadas, la separación por distancia de maíz transgénico de maíz convencional, es ampliamente recomendada como una herramienta disponible para permitir la coexistencia entre diferentes tipos de agricultura, en una escala regional (Halsey *et al.*, 2005). En la producción de semillas, surcos bordes de parentales femeninos plantados alrededor del campo de semilla actúan como una barrera física para el influjo de polen foráneo y aumenta el aislamiento biológico debido a la competencia por el suplemento del polen (Ireland *et al.*, 2006).

Una fuente de polen puede resultar del transporte accidental o ilegal de cultivos transgénicos y puede ocurrir independientemente de los sistemas regulatorios legales nacionales, por lo tanto, no es posible la contención total de estos cultivos una vez liberados comercialmente. Sus semillas son fácilmente transportadas a través de las fronteras internacionales, intencionalmente o no, y en algunos casos, los agricultores locales pueden propagar plantas con características transgénicas útiles (Ortiz-García *et al.*, 2005).

El maíz es una especie con polinización cruzada, en el que cada grano representa un evento independiente de hibridación. Varios granos de una misma mazorca son originados por diferentes parentales masculinos, dependiendo de la densidad de siembra, la proximidad a otros campos que florezcan al mismo tiempo, la humedad local y la velocidad del viento que afectan la dispersión del polen (Luna *et al.*, 2001).

En México está prohibida la siembra de maíz transgénico. Sin embargo, Quist y Chapela (Quist y Chapela, 2001; Quist y Chapela, 2002) publicaron evidencia de la presencia de transgenes en las variedades locales de maíz en el norte del estado mexicano de Oaxaca. Esta región es parte del centro de origen mesoamericano del maíz, y la diversidad genética que es mantenida por variedades locales de polinización abierta, es reconocida como un importante recurso genético de gran valor cultural (Ortiz-García *et al.*, 2005). En 2001 detectaron secuencias del promotor 35S (p35S) derivado del virus del mosaico del coliflor (CaMV) en muestras de granos provenientes de 6 mazorcas, usando métodos basados en PCR y *Dot-Blot*. En 2002, detectaron la presencia del terminador del gen *NOS* de *A. tumefaciens* (tNOS) en muestras de dos de cuatro mazorcas de variedades locales, y en una de esas mazorcas se detectó la presencia del gen *RI Cry1Ac*. Estos resultados fueron criticados por estar basadas en PCR inversa, técnica especialmente expuesta a artefactos, es decir falsos positivos (Christou, 2002; Kaplinski *et al.*, 2002).

Estos resultados impulsaron un debate mundial sobre los efectos del flujo de genes desde los cultivos transgénicos hacia las variedades locales, sobre la salud, el ambiente y los aspectos socio-económicos. Por ello un equipo de investigación con la participación de especialistas del Instituto Nacional de Ecología, la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad en México y la *Ohio State University*, realizaron un seguimiento al problema en el 2003 y 2004 en el estado de Oaxaca (Ortiz-García *et al.*, 2005).

Se recogieron muestras de semillas de maíz de 870 plantas en 125 campos y 16 localidades, para un total de 153.746 semillas de variedades locales. Se seleccionaron algunas plantas estresadas, por considerar que este fenotipo puede ser un indicador de flujo de genes, dado que el parental transgénico es una variedad moderna, más susceptible que las variedades locales desarrolladas en y para un ambiente específico. Como los métodos basados en PCR pueden dar falsos positivos, se decidió que las muestras se hicieran por duplicado y se trabajaran en dos laboratorios independientes. Se buscó la presencia del p35S de CaMv y el tNOS, dado que uno o ambos eventos están presentes en todas las variedades comerciales de maíz transgénico. No se detectaron secuencias con marcadores basados en PCR de alta sensibilidad, con los controles negativos y positivos apropiados (Ortiz-García *et al.*, 2005). El Instituto Nacional de Ecología de México muestreó otras localidades en Guerrero (2002) y Michoacán (2003) con resultados negativos similares (Ortiz-García *et al.*, 2005).

Los resultados contradictorios fueron explicados por los autores del último reporte de la siguiente forma (Ortiz-García *et al.*, 2005): asumiendo que los transgenes estuvieron presentes antes, varios mecanismos pueden haber prevenido la persistencia de frecuencias detectables en las semillas muestreadas:

1. El influjo de semillas transgénicas puede haber declinado después que los agricultores quedaron preocupados por este asunto.

2. Los transgenes que estuvieron presentes en 2000 y 2001 pueden haberse retrocruzado dentro de las poblaciones de variedades locales hasta una frecuencia extremadamente baja.
3. Los transgenes pueden perderse por deriva genética si son lo suficientemente raros para ser extintos totalmente.
4. La frecuencia de transgenes puede declinar si las plantas provenientes de semillas importadas producen menos polen o menos semilla que otras plantas de la misma población.
5. La inexistencia de semillas transgénicas en variedades locales, puede ser debida a la selección natural conjugada con la selección de los agricultores en contra de las plantas transgénicas y su progenie inmediata.
6. Los granos importados son derivados de híbridos de polinización abierta, y estas semillas F2 pueden producir plantas que son menos vigorosas que sus parentales, debido a la reducción en el vigor híbrido.
7. Las semillas derivadas de variedades comerciales no son seleccionadas bajo condiciones de estrés biótico que prevalecen donde las variedades locales se cultivan.

Aunque no es probable que la presencia de unos pocos transgenes puedan reducir la diversidad genética de poblaciones de variedades locales, comparado con el efecto extendido del flujo génico de cultivos modernos no modificados, los transgénicos son percibidos como un peligro para la identidad cultural de los cultivos por los agricultores locales (Bellon y Berthaud, 2004). En ese sentido, las percepciones culturales y el orgullo de los agricultores locales en el valor de linajes de cultivos tradicionales, son herramientas para la conservación de la diversidad del germoplasma (Bellon y Berthaud, 2004).

Otro asunto es el de los refugios que por mandato legal deben mantenerse en cultivos RI. Refugios es una parte del cultivo, entre el 4% y el 20%, que debe plantarse con semillas convencionales, como estrategia para retrasar el apareamiento de biotipos de insectos resistente a la toxina RI. Así, en estas zonas de cultivos convencionales cercanos a cultivos RI, se promueve la sobrevivencia de biotipos susceptibles. Chilcutt y Tabashnik, 2004, reportaron que flujo de genes mediado por polen, hasta en 31 m, desde maíz RI, causa baja o moderado nivel de toxinas en granos de maíz convencional de las plantas refugio. Ensayos inmunológicos en muestras de maíz convencional de los campos refugio, mostró que el promedio de la concentración de la toxina Cry1Ab en granos y el porcentaje de granos con Cry1Ab disminuye con la distancia del maíz RI.

La estrategia de refugio, se complementa con la estrategia de altas dosis, para retardar el apareamiento de la resistencia. Idealmente, son muy escasos los adultos resistentes que emergen de los cultivos RI, y que se aparean con adultos susceptibles, relativamente abundantes de los cultivos refugios, generando poblaciones heterocigotos que son eliminadas por las altas dosis de toxinas provenientes de los cultivos RI (Chilcutt y Tabashnik, 2004). Se han trabajado sobre modelos que predicen que la resistencia podría ser retardada sustancialmente, si estas condiciones son mantenidas (Gould, 1998). Sin embargo, el apareamiento de granos híbridos RI en mazorcas de plantas refugio pueden alterar la estrategia.

El mayor riesgo en el flujo de genes o transgenes vía polen, podría provenir de una combinación de cultivos que tengan domesticación escasa (por lo tanto divergencia ecológica y reproductiva mínima de los progenitores silvestres), con especies silvestres receptoras que sean malezas agresivas, y con genes o transgenes que proporcionen una ventaja adaptativa al híbrido resultante. La ventaja selectiva del carácter introducido puede ser suficiente para hacer al híbrido superior a las plantas silvestres puras. El híbrido puede persistir a través de la reproducción asexual, o por retrocruce hacia las malezas dirige el carácter transferido para ingresar en la población, mediante introgresión. La selección natural eliminaría los genotipos que contengan combinaciones génicas negativas para

la adaptación. Pero, el impacto ecológico de la hibridación cultivo / maleza puede depender más de la biología del cultivo, del pariente silvestre y del gen transferido que sobre el método de transferencia génica (Ellstrand y Hoffman, 1990), es decir no es exclusivo de los cultivos transgénicos.

La posibilidad de incrementar el valor adaptativo de las progenies híbridas y progenies de retrocruce transgénicas, depende de la naturaleza del transgen. Por ejemplo, semillas que contengan el transgen TH, pueden causar problemas en agroecosistemas, pero podrían tener un efecto muy pequeño en ambientes no agrícolas donde el herbicida está ausente. En contraste, un transgen RI en una maleza hospedera, puede alterar la ecología natural, debido a la ventaja adaptativa de la maleza transgénica, como resultado de la presión de selección de un determinado insecto (Stewart *et al.*, 1996). Transgenes que inducen incremento en el valor adaptativo bajo condiciones naturales, tienen el potencial de romper el balance de un ecosistema establecido (Warwick *et al.*, 1999).

El destino evolutivo de un gen de resistencia depende de dos propiedades: el beneficio de la resistencia conferida y el efecto pleitrópico negativo del gen sobre el valor adaptativo. Si el costo es alto, entonces el gen va a estar en desventaja selectiva relativa frente a los alelos silvestres, en la ausencia del agente selectivo. Estudios de campo con plantas transgénicas que muestran resistencia a virus, herbicidas o insectos, han mostrado que la resistencia se expresa, sin disminuir el valor adaptativo (Purington y Bergelson, 1997).

#### INTROGRESIÓN DESDE LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS HACIA SUS PARIENTES SILVESTRES

La introgresión es el movimiento de genes de una especie a otra seguida de su estabilización en el genoma hospedero. Requiere de hibridación, seguida de varias generaciones de retrocruces hacia uno de los parentales. El proceso de introgresión no es simple, ocurre en muchos pasos en los cuales participan varias generaciones de híbridos: F1, F2, BC1, BC2 y así sucesivamente, los cuales puedan intercambiar genes y coexistir simultáneamente por muchos años (Stewart *et al.*, 2003).

Los cultivos transgénicos pueden formar poblaciones voluntarias, germinadas desde el banco de semillas del suelo, que pueden ser depósitos importantes de transgenes que podrían pasar al genoma de parientes silvestres (Stewart *et al.*, 2003). La introgresión de un transgen es un proceso dinámico que podría tomar muchos años y generaciones antes que se fije en el "background" genético de un pariente silvestre (Stewart *et al.*, 2003). Si la selección es fuerte y/o el tamaño de la población es pequeño, la fijación de un gen introgresado puede ocurrir rápidamente (Fig. 4).

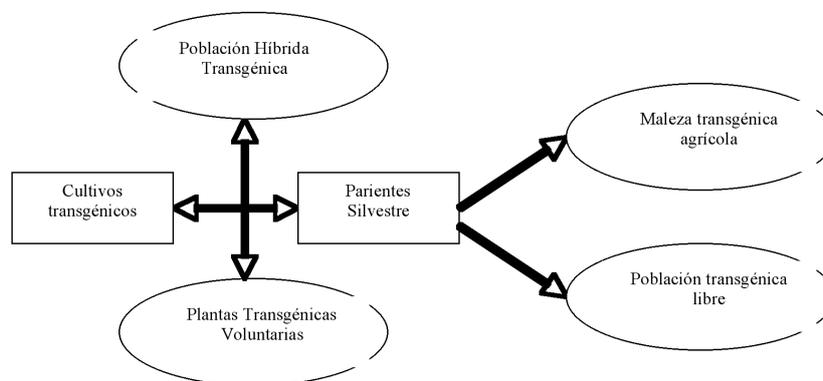


Figura 4. Flujo de transgenes y posible depósito de transgenes. Las cajas representan poblaciones iniciales y las flechas representan potenciales vías de flujo génico. Los óvalos representan poblaciones potenciales transgénicas, luego de la introducción de transgenes y la introgresión. Adaptado de Stewart *et al.*, 2003.

Las consecuencias potenciales de la introgresión natural incluye: incrementar la diversidad genética, transferencia y origen de adaptaciones, origen de ecotipos o especies, rompimiento o refuerzo de barreras de aislamiento, promoción de colonización y dispersión (Abbott, 1992; Ellstrand y Schirenbeck, 2000; Abbott *et al.*, 2003).

Las zonas naturales de hibridación contienen un rango de genotipos que son el resultado de muchas generaciones de recombinación y selección natural; si todos los componentes de las barreras para flujo interespecífico de genes o introgresión están presentes, este escenario puede ser útil para la comprensión del movimiento de transgenes dentro de las especies (Stewart *et al.*, 2003). En zonas naturales de hibridación, puede retardarse la introgresión de genes que son negativamente seleccionados en el hábitat o en el *background* genético de la especie receptora, mientras alelos neutros o positivamente seleccionados pueden introgresarse a frecuencias mayores y a grandes distancias (Barton y Hewitt, 1985; Harrison, 1990). Efectos similares se han predicho para el establecimiento y extensión de transgenes neutros, positiva o negativamente seleccionados en poblaciones naturales (Stewart *et al.*, 2003).

El desarrollo de variedades mejoradas ha aportado algunos de los estudios más detallados del mecanismo de introgresión (Stewart *et al.*, 2003). La introgresión de material benéfico exótico en variedades mejoradas aumenta la variabilidad potencial de la especie cultivada, incluso teniendo en cuenta la introducción de caracteres que originalmente están ausentes en ese genoma (Tanksley y McCouch, 1997; Zamir, 2001). Para obtener estos resultados, los fitomejoradores deben practicar una selección fuerte y prolongada para efectivamente introgresar un gen específico; cada introgresión puede estar asociada a un conjunto de alelos de los parentales exóticos (Stewart *et al.*, 2003). Las variedades vegetales desarrolladas mediante cruzamientos amplios, frecuentemente no expresan las características agronómicas del parental élite, lo cual es atribuido al efecto de ligamiento de genes asociados al carácter introgresado (Stewart *et al.*, 2003). En relación con los cultivos transgénicos, la ligación de alelos domesticados pueden imponer una importante barrera a la introgresión de fenotipos transgénicos dentro del genoma de parientes silvestres (Stewart *et al.*, 2003).

Sobre la base de evidencia molecular, se dividen los cultivos en cuatro categorías de riesgo de introgresión de transgenes hacia parientes silvestres: muy bajo, bajo, moderado y alto (Stewart *et al.*, 2003). No existe evidencia molecular de introgresión desde cultivos hacia parientes silvestres en: soya, cebada, maíz, frijol, maní y papa. Estos cultivos se consideran de muy bajo riesgo y por lo tanto podrían ser utilizados para el desarrollo de cultivos transgénicos sin muchos problemas (Stewart *et al.*, 2003).

Para algunos cultivos se ha encontrado evidencia de introgresión de genes en parientes silvestres a bajas frecuencias: maíz, arroz y algodón. Estos cultivos se consideran de bajo riesgo y no parecen plantear problemas para la agricultura o la estabilidad ecológica. Podrían usarse en la transgénesis, con algunas medidas de bioseguridad o donde no existan parientes silvestres (Stewart *et al.*, 2003).

Cultivos de riesgo moderado, son aquellos en los que existe una amplia evidencia de introgresión hacia parientes silvestres: alfalfa, remolacha azucarera, trigo, canola y girasol. Los parientes silvestres de estas especies forman grandes poblaciones naturales o son malezas agrícolas. Los efectos ecológicos potenciales de los transgenes, deben ser considerados caso a caso para estas especies (Stewart *et al.*, 2003).

Un ejemplo de cultivo con riesgo alto de introgresión, es el sorgo que puede hibridarse con poblaciones silvestres de la misma especie, algunas de las cuales son las malezas más agresivas del mundo (*Sorghum halapense*). Sería imprudente modificar genéticamente al sorgo con características tales como la tolerancia a herbicidas o cualquiera que incremente el valor adaptativo de un pariente silvestre (Stewart *et al.*, 2003).

La influencia de la transgénesis sobre las poblaciones silvestres depende del transgen, el cultivo y la maleza recipiente. Los transgenes se pueden dividir en categorías sobre la base de su efecto negativo: neutral en el ambiente natural, perjudicial, o con efecto variable dependiendo de la capacidad invasora de la maleza recipiente, el grado del control biológico natural y la ventaja selectiva relativa derivada del gen (Stewart *et al.*, 2003).

Transgenes que tiene un efecto neutral sobre la capacidad adaptativa podrían extenderse dentro de poblaciones naturales a través de la deriva genética, pero podrían no tener efectos subsecuentes sobre la capacidad adaptativa, por ejemplo los genes que confieren resistencia a antibióticos. Transgenes con efecto perjudicial son seleccionados en contra del ambiente y no pueden expandirse dentro de una población silvestre, como por ejemplo los genes que confieren androsterilidad. Los transgenes que producen resistencia a plagas pueden variar en su capacidad adaptativa potencial, dependiendo de la capacidad invasora de la especie recipiente y del nivel del control natural, como por ejemplo genes que confieren resistencia a virus o a insectos. Los transgenes que confieren tolerancia a herbicidas, son por un lado selectivamente neutrales en el ambiente, pero pueden causar serios problemas en la agricultura, cuando se incorporan a las malezas de un cultivo. Finalmente, transgenes que cambian la tolerancia ambiental de una especie o alteran los patrones de crecimiento o desarrollo, tienen un importante efecto sobre la capacidad adaptativa de las especies recipientes, como por ejemplo, genes que confieran tolerancia al estrés abiótico (Stewart *et al.*, 2003).

#### EFFECTOS AMBIENTALES

Con la introducción de los cultivos transgénicos, se ha planteado que la diversidad genética dentro de las especies cultivadas podría decrecer, porque los programas de fitomejoramiento podrían concentrarse en un pequeño número de cultivos de alto valor (Ammann, 2005). Sin embargo, varios estudios sobre este tema, han concluido que la introducción de cultivos transgénicos en la agricultura no han afectado significativamente los niveles de diversidad genética dentro de las especies cultivadas. Mas bien, la biotecnología representa una herramienta para aumentar la diversidad genética en especies cultivadas, a través de la introducción de nuevos genes (Ammann, 2005).

Sneller, 2003, observó la estructura genética de la población elite de soya en Norteamérica usando el análisis de coeficiente de paternidad, concluyendo que la introducción de soya TH tiene un pequeño efecto sobre la diversidad genética debido al uso extendido del carácter en muchos programas de mejoramiento. Bowman *et al.*, 2003, encontraron que la uniformidad entre variedades de algodón en Estados Unidos no se alteró con la introducción de cultivos transgénicos.

Para los cultivos transgénicos son mayores las exigencias en bioseguridad que para los cultivos convencionales, ya que se requiere una evaluación exhaustiva del riesgo de efectos potenciales desconocidos sobre el ambiente como prerrequisito para comercializar cualquier variedad transgénica. El riesgo de este tipo de cultivos para el ambiente y especialmente para la biodiversidad, ha sido extensamente evaluado en el mundo durante los pasados diez años de liberación comercial. Los datos disponibles hasta la fecha, no proporcionan ninguna evidencia científica que la comercialización de cultivos transgénicos haya causado daño ambiental (Sanvido *et al.*, 2006).

Puede ocurrir que malezas TH, resultantes del flujo de genes vía polen, pueden generar mayores problemas en la agricultura que las malezas convencionales, pero los agricultores pueden rotar los herbicidas para el manejo y control de estas malezas transgénicas (Sanvido *et al.*, 2006). Sin embargo, transgenes TH es improbable que confieran algún beneficio en hábitats naturales ya que estos genes son neutrales selectivamente en esos ambientes (Sanvido *et al.*, 2006).

No se ha observado introgresión de transgenes dentro de poblaciones de plantas silvestres, conduciendo a la extinción a ninguna de estas plantas. No existe evidencia que el cultivo extensivo

de canola TH por varios años en el oeste de Canadá haya resultado en una amplia dispersión de plantas voluntarias acarreado el carácter transgénico, ni hay evidencia que la canola TH se haya vuelto silvestre y esté invadiendo hábitats naturales (Sanvido *et al.*, 2006).

Es difícil evaluar las consecuencias evolutivas del impacto de los cultivos transgénicos sobre las prácticas de manejo de malezas y plagas, debido a que están influenciadas por muchos factores que interactúan en un largo período de tiempo (Sanvido *et al.*, 2006). La experiencia disponible desde regiones donde crecen los cultivos TH en gran escala, confirman la hipótesis que el desarrollo de la resistencia a herbicidas en malezas no es una cuestión de modificación genética, sino del manejo herbicida/cultivo aplicado por los agricultores (Sanvido *et al.*, 2006). A pesar del cultivo intensivo de canola TH en Canadá no hay reportes de malezas con tolerancia a glifosato o a glufosinato, mientras que en solo tres años de cultivos de soya TH en USA, se registró la presencia de biotipos resistentes a glifosato de *Conyza canadensis* (Sanvido *et al.*, 2006). Pero existen herbicidas alternativos eficientes y buenos que pueden ser usados en el control de estas malezas resistentes (Sanvido *et al.*, 2006).

La adopción de cultivos TH ha facilitado el cambio hacia agricultura de conservación, mediante la cual, los agricultores reducen sus operaciones de labranza, previniendo la erosión y degradación del suelo (Sanvido *et al.*, 2006). La labranza de conservación resulta en una mayor disponibilidad de residuos de cultivo y semillas de malezas, lo cual mejora el suplemento de alimentos para insectos, pájaros y pequeños mamíferos (Sanvido *et al.*, 2006).

## CONCLUSIÓN

La presencia de cultivos transgénicos en 125 millones de hectáreas, constituye un escenario biológicamente relevante, en relación con efectos ambientales en el mediano plazo o efectos evolutivos en el largo plazo. Un fenotipo depende más de la expresión del gen, que de la forma como este ha sido introducido en el genoma de una especie cultivada. Los principios que gobiernan la expresión transgénica y determinan la dispersión del transgene en poblaciones de plantas, son esencialmente los mismos que operan sobre genes nativos. La segregación de transgenes con bajo número de copias, siguen los mismos patrones mendelianos de los productos del mejoramiento clásico. Se ha demostrado la existencia de híbridos entre parientes silvestres y su contraparte transgénica, y entre una variedad transgénica y una variedad mejorada de la misma especie. El efecto de la hibridación con la especie silvestre, va a depender de la interacción del transgen con la especie receptora en el ecosistema donde se libere el cultivar transgénico. Si el transgen tiene un efecto positivo en la capacidad adaptativa de la especie silvestre, y esta es una maleza agresiva, puede configurarse un escenario de alto riesgo ambiental. Si el transgen tiene un efecto negativo sobre la capacidad adaptativa de la especie silvestre, o no existen parientes silvestres en el local de liberación, es muy bajo el riesgo ambiental. El mayor efecto ambiental o evolutivo es causado por la estabilización del transgen en el genoma silvestre, luego de que varias generaciones de hibridación y retrocruzamiento coexisten, proceso denominado introgresión. Las posibilidades de introgresión están más determinadas por las características del gen y por su localización en el genoma donador, que por la forma como ha sido introducido en este genoma. Así, si el gen hace parte de grupos de ligación con alelos domesticados seleccionados negativamente, es más improbable que puedan introgresarse en genomas silvestres, que si el gen es seleccionado positivamente en el ambiente específico. No se ha reportado efectos negativos sobre la diversidad genética de las especies transformadas, debido a la introducción de cultivos transgénicos. La biotecnología es una herramienta para aumentar la diversidad genética, mediante la transferencia de genes foráneos. Para la liberación comercial de los cultivos transgénicos se requiere una evaluación exhaustiva del riesgo potencial sobre el ambiente y sobre los

organismos que los vayan a consumir. Estos riesgos han sido extensamente evaluados desde su liberación comercial. Los datos disponibles no proporcionan ninguna evidencia científica de que la comercialización de cultivos transgénicos haya causado daño ambiental. Parecería, entonces, que los cultivos transgénicos no escapan a la selección natural darwinista, por lo menos a la luz de la evidencia analizada en relación con las variedades liberadas comercialmente, con todo es muy temprano en términos evolutivos para llegar a conclusiones más o menos definitivas sobre este asunto.

## BIBLIOGRAFÍA

- ABBOTT RJ, JAMES JK, MILNE RI, GILLIES ACM. Plant introductions, hybridization and gene flow. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2003;358:1123-1132.
- ABBOTT RJ. Plant invasions, interspecific hybridization and the evolution of plant taxa. *Trends Ecol Evol.* 1992;7:401-405.
- AGROBIO. Estadísticas de Cultivos GM (2008). (Visitado el 15 de octubre de 2009) Disponible en: URL: [http://www.agrobio.org/index.php?option=com\\_content&task=view&id=7350&Itemid=15](http://www.agrobio.org/index.php?option=com_content&task=view&id=7350&Itemid=15)
- AMMANN K. Effects of biotechnology on biodiversity: herbicide-tolerant and insect-resistant GM crops. *Trends Biotechnol.* 2005;23(8):388-394.
- BARTON NH, HEWITT GM. Analysis of hybrid zones. *Annu Rev Eco Syst.* 1985;16:113-148.
- BELLON MR, BERTHAUD J. Transgenic Maize and the Evolution of Landrace Diversity in Mexico. The Importance of Farmers' Behavior. *Plant Physiol.* 2004;134:883-888.
- BOWMAN DT, MAY OL, CREECH JB. Genetic uniformity of the US upland cottoncrop since the introduction of transgenic cottons. *Crop Sci.* 2003;43:515-518.
- BROOKES G, BARFOOT P. Global impact of Biotech crops: socio economic and environmental effects, 1996-2006. *Ag Bio Forum.* 2008;11(1):21-38.
- CHAPARRO-GIRALDO A. Hibridación entre plantas transgénicas y plantas silvestres: Límites del Riesgo Ambiental. *Rev Colomb Biotecnol.* 2001;3(1):36-43.
- CHILCUTT CF, TABASHNIK BE. Contamination of refuges by *Bacillus thuringiensis* toxin genes from transgenic maize. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(20):7526-7529.
- CHRISTOU P. No credible scientific evidence is presented to support claims that transgenic DNA was introgressed into traditional Maize Landraces in Oaxaca, Mexico. *Transgenic Res.* 2002;11: iii-v.
- DALE PJ. Spread of Engineered Genes to Wild Relatives. *Plant Physiol.* 1992;100:13-15.
- DALE PJ, IRWIN JA, SCHEFFLER A. The experimental and commercial release of transgenic crop plants. *Plant Breed.* 1993;111:1-22.
- DARWIN CH. El origen de las especies. Martínez, E. (Trad.) Barcelona: Edicomunicaciones S.A.; 2001.
- ELLSTRAND NC. Current knowledge of gene flow in plants: implications for transgene flow. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2003;358:1163-1170.
- ELLSTRAND NC, SCHIERENBECK K. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:7043-7050.
- ELLSTRAND NC, HOFFMAN CA. Hybridization as an avenue of escape for engineered genes. *Bioscience.* 1990;40(6):438-442.
- GOULD F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *Annu Rev Entomol.* 1998;43:701-726.
- HALFHILL MD, MILLWOOD RJ, RAYMER PL, STEWART CN. Bt-transgenic oilseed rape hybridization with its weedy relative, *Brassica rapa*. *Environ. Biosafety Res.* 2002;1:19-28.

HALSEY ME, REMUND KM, DAVIS CA, QUALLS M, EPPARD PJ, BERBERICH SA. Isolation of maize from pollen-mediated gene flow by time and distance. *Crop Sci.* 2005;45:2172-2185.

HARRISON RG. Hybrid zones: windows on evolutionary process. *Oxf Surv Evol Biol.* 1990;7:69-128.

IRELAND DS, WILSON DO, WESTGATE ME, BURRIS JS, LAUER M J. Managing reproductive isolation in hybrid seed corn production. *Crop Sci.* 2006;46:1445-1455.

JACOB F. O rato, a mosca e o homem. Guimaraes, M. (Trad.) Sao Paulo: Campanhia Das Letras; 1998.

JAMES C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2008. ISAAA Brief No. 39. ISAAA: Ithaca, NY. 2008. Disponible en [www.isaaa.org](http://www.isaaa.org).

KAPLINSKI N, BRAUN D, LISCH D, HAY A, HAKE S, FREELING M. Maize transgenic results in Mexico artefacts. *Nature.* 2002;416:602-603.

LUNA VS, FIGUEROA MJ, BALTAZAR MB, GOMEZ LR, TOWNSEND R, SCHOPER JB. Maize Pollen Longevity and Distance Isolation Requirements for Effective Pollen Control. *Crop Sci.* 2001;41:1551-1557.

METZ PLJ, JACOBSEN E, NAP JP, PEREIRA A, STIEKEMA WJ The impact of biosafety of the phosphinothricin tolerance transgene in inter-specific *B. rapa* × *B. napus* hybrids and their successive backcrosses. *Theor Appl Genet.* 1997;95:442-450.

MILLER HI, HUTTNER SL, BEACHY R. Risk assessment experiments for “Genetically Modified” plants. *Nat Biotechnol.* 1993;11:1323-1324.

ORTIZ-GARCÍA S, EZCURRA E, SCHOEL B, ACEVEDO F, SOBERÓN J, SNOW A. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico (2003-2004). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:12338-12343.

PADGETTE SR, KOLACZ KH, DELANNAY X, RE DB, LAVALLEE BJ, TINIUS CN, RHODES WK. *et al.* Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Science.* 1995;35:1451-1461.

PURRINGTON CB, BERGELSON J. Fitness Consequences of Genetically Engineered Herbicide and Antibiotic Resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics.* 1997;145:807-814.

QUIST D, CHAPELA IH. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature.* 2001;414:541-543.

QUIST D, CHAPELA IH. Maize transgenic results in Mexico artefacts - Reply. *Nature.* 2002;416:602-603.

RAY JD, KILEN TC, ABEL CA, PARIS RL. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. *Environ. Biosafety Res.* 2003;2:133-138.

RAYBOULD AF, GRAY AJ. Will hybrids of genetically modified crops invade natural communities? *Trends Ecol Evol.* 1994;9(3):85-89.

ROSELLINI D, PEZZOTTI M, VERONESI F. Characterization of transgenic male sterility male in alfalfa. *Euphytica.* 2001;118:313-319.

SANVIDO O, STARK M, ROMEIS J, BIGLER F. Ecological impacts of genetically modified crops: Experiences from ten years of experimental field research and commercial cultivation. Swiss Expert Committee for Biosafety - Federal Department of Economic Affairs. 2006. Zurich (p. 108) Disponible en [www.art.admin.ch](http://www.art.admin.ch)

SNELLER CH. Impact of transgenic genotypes and subdivision on diversity within elite North American soybean germplasm. *Crop Sci.* 2003;43:409-414.

STEWART CN, ADANG MJ, ALL JN, BOERMA HR, CARDINEAU G, TUCKER D, *et al.* Genetic transformation, recovery, and characterization of fertile soybean transgenic for a synthetic *Bacillus thuringiensis* cryIAc gene. *Plant Physiol.* 1996;112:121-129.

STEWART SD, ADAMCZYK JJ, KNIGHTEN KS, DAVIS FM. Impact of Bt cottons expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. J Econ Entomol. 2001;94(3):752-760.

STEWART CN, HALFHILL MD, WARWICK SI. Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. Nat Rev Genet. 2003;4:806-817.

TANKSLEY SD, MCCOUCH SR. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. Science. 1997;227:1063-1066.

WAINES JG, HEGDE S G. Intraspecific Gene Flow in Bread Wheat as Affected by Reproductive Biology and Pollination Ecology of Wheat Flowers. Crop Sci. 2003;43:451-463.

WARWICK SI, BECKIE HJ, SMALL E. Transgenic crops: new weed problems for Canada? Phytoprotection. 1999;80:71-84.

WILKINSON J, ELLIOTT LJ, ALLAINGUILLAUME J, SHAW M W, NORRIS C, WELTERS R, et al. Hybridization Between *Brassica napus* and *B. rapa* on a National Scale in the United Kingdom. Science. 2003;302:457-459.

YOSHIMURA Y, MATSUO K, YASUDA K. Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. Environ. Biosafety Res. 2006;5:169-173.

ZAMIR D. Improving plant breeding with exotic genetic libraries. Nature Rev Genet. 2001;2:983-989.

ZUO JR, CHUA NH. Chemical-inducible system for regulated expression of plant genes. Curr Opin Biotechnol. 2000;11:146-151.

