

Mitos y realidades sobre las plantas transgénicas resistentes a insectos

Myths and realities on insect-resistant transgenic plants

Jorge E. Ibarra*, Ma. Cristina Del Rincón-Castro**

RESUMEN

Existe un gran debate sobre el uso de las plantas transgénicas en el campo a nivel mundial. Este debate, al tratarse de una potente tecnología, debe estar fundamentado en evidencias provenientes de estudios de investigadores calificados en el tema. Por ello, en este reporte revisamos exhaustivamente artículos científicos con información de posibles riesgos al liberar las plantas transgénicas resistentes a plagas, con evidencias experimentales. Se consultaron más de ochocientos artículos relacionados con diversos temas acerca de los posibles riesgos de dichas liberaciones, incluyendo sólo aquellos artículos publicados en revistas científicas reconocidas que incluyeran la revisión de pares. Por razones prácticas, esta revisión sólo cita cincuenta y nueve de estos artículos en su lista de referencias. De la revisión de dichos artículos, se observó una abrumadora recopilación de evidencias sobre la seguridad del uso y liberación de dichas plantas. La liberación de las plantas transgénicas resistentes a insectos es segura, y sólo deben hacerse estudios sobre la posible introgresión de transgenes en plantas silvestres, como el teocintle.

ABSTRACT

There is a great debate about the use and field release of transgenic plants throughout the world. Due to the great potential of transgenic plants, this debate should be based on evidences coming from scientific studies made by qualified researchers. This report is based on the exhaustive review of scientific articles showing experimental support dealing with possible risks of releasing to the field these plants resistant to pest damage. More than eight hundred articles related to various issues about the potential risks of such releases were consulted. Only articles published in recognized peer reviewed scientific journals were included. From such a review, an overwhelming amount of evidence was found supporting the safety about the use and release of these insect-resistant plants. To date, the release of insect-resistant transgenic plants is safe. Studies on the possible introgression of transgenes into wild plants, such as teosinte, should be made.

Recibido: 13 de octubre de 2014

Aceptado: 21 de abril de 2015

Palabras clave:

Bacillus thuringiensis; toxicidad; organismos no-blanco; mariposa monarca; alergias.

Keywords:

Bacillus thuringiensis, toxicity, non-target organisms, Monarch butterfly, allergies.

Cómo citar:

Ibarra, J. E., & Del Rincón-Castro, Ma. C. (2015). Mitos y realidades sobre las plantas transgénicas resistentes a insectos. *Acta Universitaria*, 25(NE-3), 13-23. doi: 10.15174/au.2015.905

INTRODUCCIÓN

Las plantas transgénicas se han desarrollado con el objeto de resolver una gran diversidad de problemas (figura 1), como la tolerancia a factores ambientales, el aumento en la calidad nutricional de los cultivos, la producción de materiales industriales o de vacunas y la resistencia a plagas y enfermedades. Sin embargo, su desarrollo tecnológico y su eficiencia en el campo no son suficiente razón para que una planta transgénica sea liberada al campo, sin antes pasar por una serie de requerimientos de seguridad. Estos requerimientos son impuestos a través de reglamentos desarrollados, regulados y avalados por los gobiernos de cada país, los cuales tienen como objetivo salvaguardar la salud y la integridad de sus gobernados, así como la de su medio ambiente (Gilbert, 2013). Más

* Centro de Investigación de Estudios Avanzados (Cinvestav), del Instituto Politécnico Nacional (IPN). Libramiento Norte, carretera Irapuato-León km. 9.6, Irapuato, Irapuato, Gto., México, C.P. 36821. Tel.: (462) 6239643. Correo electrónico: jibarra@ira.cinvestav.mx

** División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Ex-Hacienda El Copal Km. 9.0, Irapuato, Gto., México, C.P. 36500.

aún, el tema de las plantas transgénicas ha sido sujeto a una serie de críticas por parte de varias Organizaciones no Gubernamentales (ONG) y por la ciudadanía en general, lo cual hace imperativo que se cuente con evidencia recabada a través de estudios científicos (figura 2) que reflejen su inocuidad en el campo, así como en sus productos. El tema de las plantas transgénicas resistentes al ataque de insectos plagas será abordado en esta compilación, con el objeto de revisar los estudios realizados sobre sus posibles efectos adversos en la salud humana y la ecología, y que por lo mismo pudieran restringir su liberación en el campo (Grunewald, Bury & Inzé, 2013).

Plantas resistentes al ataque de insectos

El primer reporte sobre el desarrollo de una planta transgénica resistente al ataque de un insecto plaga apareció en 1987 (Vaeck *et al.*, 1987). La planta fue el tabaco, la plaga, el gusano de cuerno del tabaco *Manduca sexta*, y la proteína que confería la resistencia, la δ -endotoxina proveniente de la bacteria bioinsecticida *Bacillus thuringiensis*. A partir de entonces se han desarrollado innumerables plantas transgénicas resistentes a plagas, tanto con el mismo tipo de toxinas de la misma bacteria, como con proteínas de origen diverso. La gran mayoría de estas plantas se han desarrollado a nivel experimental, y sólo unas cuantas finalmente fueron comercializadas y liberadas a partir de 1996; todas estas últimas con genes provenientes de *B. thuringiensis* (figura 3). Esto da el nombre genérico que han recibido estas plantas: *maíz Bt*, *algodón Bt*, *papa Bt*, *canola Bt*, etcétera (Marvier, McCreedy, Rgetz & Kareiva, 2007).

La bacteria *B. thuringiensis* fue descubierta en 1901 por Shigetane Ishiwata, causando mortalidad a las colonias del gusano de seda. Posteriormente, en 1915, otra cepa fue aislada por Ernst Berliner a partir de larvas de *Ephestia kuhniella*, provenientes de la provincia alemana de Thüringen (Turingia), quien la clasificó como una nueva especie: *Bacillus thuringiensis*. La bacteria se utilizó como agente de control de plagas a principios de los años treinta, pero fue relegada, primero por el surgimiento de la Segunda Guerra Mundial y luego por el advenimiento de los insecticidas químicos. Fue hasta los años cincuenta cuando Edward Steinhaus reinició su estudio, comprobando su gran potencial como agente de control de plagas, y promoviendo su desarrollo industrial y comercial como bioinsecticida (Beegle & Yamamoto, 1992).

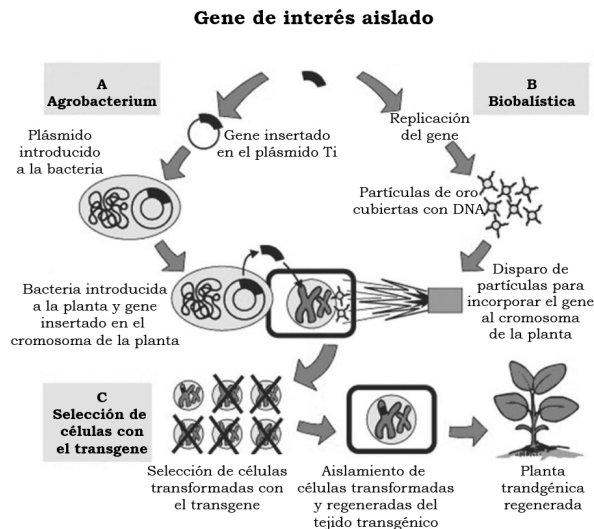


Figura 1. Esquema general del desarrollo de plantas transgénicas, ya sea por transformación mediada por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* o por bombardeo de micropartículas de oro.

Fuente: Modificado de Bhandary (2010).



Figura 2. Existe una gran controversia sobre el uso y consumo de organismos genéticamente modificados, especialmente en Europa. Desafortunadamente, las posturas radicales de grupos extremistas no se basan en evidencias científicas, sino sólo en actitudes demagógicas y de grupo.

Fuente: Hodgson (2008).

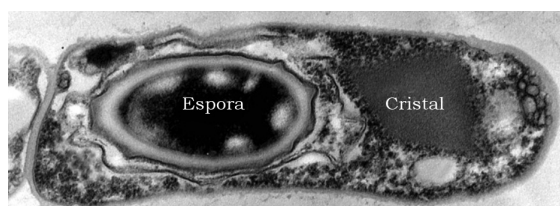


Figura 3. Esporangio de la bacteria *Bacillus thuringiensis* mostrando la espora típica del género y el cristal o cuerpo parasporal que contiene las proteínas Cry que son expresadas en los cultivos Bt.

Fuente: Sierra-Martínez, Ibarra, De la Torre & Olmedo (2004).

La especificidad de las proteínas Cry o δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* es tan alta que sólo atacan a un grupo específico de insectos, como por ejemplo las larvas de los lepidópteros. Otras toxinas Cry tienen actividad insecticida contra algunas pocas especies de coleópteros, y otras contra mosquitos y jejenes. Dicha especificidad se debe a la complementación tridimensional que la molécula de δ -endotoxina tiene con el receptor de membrana, al cual se une y forma un poro que finalmente hace estallar la célula. A pesar de que existen a la fecha más de 800 toxinas Cry reportadas (Crickmore *et al.*, 2014), sólo unas cuantas han sido utilizadas en los productos bioinsecticidas con base en esta bacteria, y el número es mucho menor en aquéllas que se han utilizado para el desarrollo de plantas transgénicas. Como proteínas, todas estas toxinas son el producto directo de la expresión de genes contenidos en la bacteria, de ahí su importancia en la transferencia de estos genes a las plantas. Cuando estos genes son integrados al genoma de las plantas, éstas producen la toxina como cualquier otra proteína en sus tejidos, en forma sistémica. Si una plaga susceptible ingiere el tejido de la planta transgénica, la plaga se intoxicará y morirá sin siquiera haber causado un daño perceptible a la planta. Ésta es la base de la eficiencia de las plantas Bt contra el ataque de las plagas que son susceptibles a este tipo de toxinas. A pesar de que existe una gran cantidad de plantas transformadas con los genes *cry* de *B. thuringiensis*, sólo algunas han sido liberadas y explotadas comercialmente (Tabashnik, Brévault & Carrière, 2013).

Análisis de riesgo

A pesar de que las plantas transgénicas sólo difieren de las plantas originales por un gen (dos o más, en algunos casos) de un total de decenas de miles, éstas deben ser sujetas a escrutinio para asegurar que no causen daño a la salud humana ni al medio ambiente. Es por ello que su liberación al campo debe estar sujeta a una reglamentación que corresponde configurar a cada uno de los países (Li, Peng, Hallerman & Wu, 2014). Básicamente, las plantas transgénicas deben pasar estrictas pruebas de seguridad que permitan evidenciar, en forma documental, que éstas no causan daño alguno a la salud humana, a los animales domésticos ni son un factor de desequilibrio en la naturaleza (Green, Heumann, Sokolow, Foster & Skeels, 1990). Adicionalmente a los requisitos de seguridad que deben cubrir para que una planta transgénica pueda ser registrada y liberada al campo, éstas han sido sujetas a una constante revisión de sus resultados y conse-

cuencias, una vez que han sido liberadas al campo, a través de estudios realizados por una gran variedad de entidades, tanto gubernamentales como privadas. Dichos estudios se encuentran publicados, en su gran mayoría, en revistas científicas con estricto arbitraje de pares, lo cual garantiza la seriedad de dichos estudios en cuanto al rigor científico que se esperaría de cualquier publicación confiable. El tema sobre la seguridad de las plantas transgénicas resistentes al ataque de insectos plagas es abordado en este trabajo, con el objeto de revisar los estudios realizados sobre sus posibles efectos adversos en la salud humana y la ecología, y que por lo mismo pudieran restringir su liberación en el campo. Esta compilación incluye solamente publicaciones con rigor científico, eliminado aquéllas que por su carácter político, emotivo, insustancial o declarativo, carecen de evidencias sólidas avaladas por el método científico.

Efecto sobre vertebrados

Dentro de este rubro se incluyen principalmente los posibles efectos adversos de las plantas Bt sobre humanos. Un daño a la salud del hombre y sus animales domésticos podría ser ocasionado por algún efecto tóxico de la nueva proteína expresada en las plantas Bt. Es decir, que la toxina Cry expresada por la planta transgénica sea también tóxica al hombre. Otro daño directo de la toxina se podría manifestar como una reacción alérgica hacia la nueva proteína. Es importante mencionar que la inocuidad de las toxinas Cry de *B. thuringiensis* ha sido sujeta a pruebas exhaustivas desde hace más de cinco decenios, debido a que el registro de los bioinsecticidas comerciales con base en esta bacteria lo han requerido. Además, el uso de estos productos en el campo cuenta con un récord de seguridad total, ya que los casos reportados como posibles efectos deletéreos hacia el hombre o sus animales domésticos nunca han sido suficientemente comprobados (Székács & Darvas, 2012). Aspecto por demás diferente al de los insecticidas químicos.

Independientemente de estos antecedentes, las plantas que expresan las proteínas Cry han sido sujetas a elaboradas pruebas de seguridad toxicológicas y alérgicas. La mayoría de las pruebas se basan en la detección de algunas diferencias entre las poblaciones tratadas con y sin los productos de las plantas transgénicas, al usarlas como parte de la dieta experimental. Muchas de las pruebas miden los efectos en términos de desarrollo, metabolismo, comportamiento, tamaño y peso, mortalidad, capacidad nutricional, aunque algunas incluyen la detección del transgén o de la toxina

en los órganos del animal. En el caso del hombre, por razones experimentales, las pruebas se han circunscrito a las de alergenidad y a sus efectos en la salud pública de las poblaciones expuestas a las plantas transgénicas y a la agricultura convencional (Sutton, Assaad, Steinmetz & Rothenberg, 2003).

Las observaciones realizadas sobre el riesgo sanitario de los agricultores que siembran plantas Bt y plantas convencionales indican que su salubridad ha mejorado cuando se utilizan cultivos Bt que cuando se desarrolla una agricultura convencional. Esto se debe principalmente a que los primeros no están expuestos (o su exposición es mínima) a las aspersiones de insecticidas químicos (Hossain *et al.*, 2004; Huang, Hu, Rozelle & Pray, 2005). En lo que respecta al destino que tiene las toxinas Cry una vez que son ingeridas por el hombre, se han extraído fluidos del estómago y del intestino, a los que se les agrega la toxina, ya sea pura o en los tejidos de la planta, y se ha medido la estabilidad de la toxina por medio de pruebas químicas, inmunológicas e incluso dándolas a larvas susceptibles a las toxinas, con el objeto de determinar si aún son activas. Los resultados indican que las proteínas Cry se degradan, en promedio, en menos de los siete minutos después de ser añadidas a los fluidos gástricos (Cockburn, 2002; Lutz, Wiedemann, Einspanier, Mayer & Albrecht, 2005).

En lo que respecta a su alergenidad, siendo las toxinas Cry de naturaleza proteica, éstas podrían desarrollar respuestas alérgicas en el hombre (Bernstein *et al.*, 2003). Como ya se mencionó, las proteínas Cry se degradan rápidamente en el ambiente digestivo del hombre (y de otros vertebrados). Además, el procesamiento de los productos alimenticios que contienen maíz Bt incluye pasos como el calentamiento y la extrusión (Chen, Ye, Yang, Chen & Wu, 2005), los cuales han demostrado que degradan a estas proteínas. Más aún, dado que se conoce la estructura tridimensional de las δ -endotoxinas, es posible someterlas a análisis de comparación con las bases de datos, correspondientes a las proteínas altamente alérgicas. Hasta la fecha, se han comparado las estructuras moleculares de la toxina del maíz Bt con la de las proteínas de conocida alergenidad, y no se ha encontrado ninguna similitud (Shewry, Tatham & Halford, 2001). Y sin embargo, está el caso del *StarLink*.

StarLink es el nombre comercial de un evento de maíz que expresa la proteína Cry9C de *B. thuringiensis*, desarrollada por la compañía Aventis. La agencia de protec-

ción al medio ambiente de Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) otorgó el permiso para su uso como ingrediente en alimento balanceado de ganado, mientras continuaban las pruebas de seguridad para su utilización como alimento humano (Orlandi *et al.*, 2002). Sin embargo, prematuramente se detectó su presencia en tostadas de maíz de la cadena Taco Bell, lo cual fue ampliamente publicitado y sujeto a manejos políticos, más que científicos (Siruguri, Sesikeran & Bhat, 2004). La incidencia de algunos casos de alergias siguió a este incidente, y en poco tiempo ya se tenían más de 50 casos registrados (Bernstein *et al.*, 2003). De éstos, 51 fueron estudiados y en ninguno se pudo demostrar el desarrollo de alergias. Adicionalmente, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos estudió otros 17 casos de presuntas reacciones alérgicas al Cry9C; sin embargo, ninguna de las 17 muestras de sangre mostraron reacción cruzada contra esta proteína (Bernstein *et al.*, 2003). Aun así, la compañía Aventis decidió substraer del mercado a *StarLink*. Quizás en el futuro se presenten casos bien documentados y apoyados por evidencia científica que avale la alergenidad de algunas proteínas Cry (o de alguna otra proteína heteróloga). Situación que aún no ha ocurrido. Sin embargo, de ser así, habría que evaluar el riesgo de liberar un posible alérgeno, al compararlo con la presencia de otros alérgenos presentes cotidianamente en la canasta alimenticia. En conclusión, los datos acumulados hasta la fecha muestran que ninguno de los productos registrados por las compañías productoras de plantas Bt presentó algún tipo o nivel de toxicidad hacia el hombre. De la misma forma, ninguno de estos productos mostró datos fehacientes acerca de su posible alergenidad hacia el hombre.

En cuanto a las pruebas de seguridad conducidas sobre animales domésticos, por su naturaleza éstas sí están sujetas a las reglas de la experimentación. Las pruebas conducidas sobre cerdos, pollos, conejos, ratas, ratones, peces, ovejas, vacas, etcétera, son innumerables (Brake, Faust & Stein, 2005; Chowdhury *et al.*, 2003; Duggan, Chambers, Heritage & Forbes, 2003; Fares & El-Sayed, 1998). Las pruebas conducidas sobre ratones de laboratorio con dosis miles de veces mayores a las que normalmente podrían estar sujetas por alimentación con plantas Bt (Fares & El-Sayed, 1998) no han indicado ningún efecto deletéreo hasta la fecha. Especial atención han tenido las pruebas de toxicidad en cerdos, pollos y vacas (Folmer, Grant, Milton & Beck, 2002), dado que el maíz Bt es ampliamente utilizado en la preparación de alimento balanceado para estos animales de granja. En ningún caso se ha observado algún

efecto adverso en su desarrollo, metabolismo, mortalidad o cambio de comportamiento. Estos resultados son congruentes con los observados en las pruebas con toxinas producidas por la bacteria o en los productos bioinsecticidas con base en esta bacteria (Bishop, Johnson & Perani, 1999).

Efecto sobre insectos no-blanco

Otro riesgo que debe tomarse en cuenta sobre la presencia de cultivos Bt en el campo es su posible efecto deletéreo sobre poblaciones de insectos que no son plaga, es decir, los insectos no-blanco, particularmente aquellos insectos que son benéficos por consumir o parasitar a las plagas, los cuales son llamados genéricamente *enemigos naturales*. Primeramente, es necesario recordar que las toxinas de *B. thuringiensis* son muy específicas hacia las plagas que controla. La mayoría de las toxinas conocidas tiene un efecto variable entre larvas de las especies de lepidópteros, otro grupo de toxinas tiene un efecto mucho más específico sólo hacia algunas especies de coleópteros, mientras que otro grupo de toxinas tiene un efecto hacia muchas especies de mosquitos y jejenes (Ibarra, 2007). Por obvias razones, las toxinas de *B. thuringiensis* importantes para la agricultura son las pertenecientes a los dos primeros grupos, y sobre todo las primeras. En segundo lugar, los productos bioinsecticidas con base en *B. thuringiensis* han demostrado desde hace varias décadas su inocuidad hacia los insectos no-blanco (Romeis, Dutton & Bigler, 2004; Wipfli & Merrott, 1994; y 69 estudios adicionales).

Independientemente de estos antecedentes, se han realizado innumerables experimentos tendientes a corroborar que los cultivos Bt son inocuos a otras especies de insectos que no sean plagas. En éstos se incluyen 118 especies, 93 géneros, 73 familias y 12 órdenes, principalmente de insectos, aunque se incluyen algunos ácaros y arañas (Head *et al.*, 2005 y más de 233 estudios adicionales). También están incluidos casos en donde no se determinó la especie y casos en que se tomaron entomofaunas completas, sin determinar las especies correspondientes (Candolfi, Brown, Grimm, Reber & Schmidli, 2004). Muchas de estas investigaciones se enfocaron en estudiar la abundancia y diversidad de los insectos (y artrópodos, en general) no-blanco en los campos con cultivos Bt, de los cuales la mayoría indicaba similitud con los campos de cultivos no-Bt; sin embargo, algunos presentaron diferencias, tanto hacia la disminución como hacia el incremento de la diversidad, principalmente de la entomofauna benéfica. En el primer caso, se deduce que al disminuir la población de presas y hospederos (plaga), las poblaciones de depredadores y parasitoides tiende, por ende, a disminuir.

En el segundo caso, se sugiere que la disminución (o eliminación) de las aplicaciones de insecticidas químicos tiende a aumentar las poblaciones de los enemigos naturales, las cuales son altamente susceptibles a este tipo de aspersiones. Este fenómeno es frecuente en campos donde se aplican productos con base en Bt.

Es importante hacer notar que sólo algunas especies de lepidópteros son plagas agrícolas, y que el resto de los lepidópteros son potencialmente susceptibles a las toxinas que producen los cultivos Bt. Éste es el caso particular de las mariposas (aunque existen algunas mariposas que son plagas), y más específicamente la mariposa monarca, cuyo caso fue ampliamente publicitado (figura 4). En 1999 se publicó en una revista de alta relevancia científica el efecto tóxico del polen de maíz Bt sobre las larvas de esta mariposa (Hellmich *et al.*, 2001; Losey, Rayor & Carter, 1999). A éste le siguieron otros reportes, pero también una serie de críticas a la forma de probar la toxicidad (Gatehouse, Ferry & Raemaekers, 2002; Hodgson, 1999; Stanley-Horn *et al.*, 2001). Hasta ahora, nadie duda del efecto potencialmente tóxico del polen sobre ésta y otras especies de lepidópteros no-blanco. Sin embargo, en reportes científicos posteriores se demostró que bajo las condiciones de campo reales a las que están sujetas las poblaciones de la mariposa monarca (y otros lepidópteros no-blanco), la cantidad de polen que se depositaría sobre las hojas de las asclepias (plantas de las que se alimentan dichas larvas) es mucho menor a la dosis que podría causar efectos dañinos a estas larvas. Más aún, se demostró que sólo las asclepias que estuvieran a un metro (o menos) de distancia del borde del campo de maíz Bt podrían reunir las condiciones para acumular suficiente polen como para causar un efecto dañino. Adicionalmente, se comprobó que las aplicaciones de insecticidas químicos en los campos de maíz no-Bt causan una mortalidad muy superior a las larvas de las monarcas (Oberhauser *et al.*, 2001).

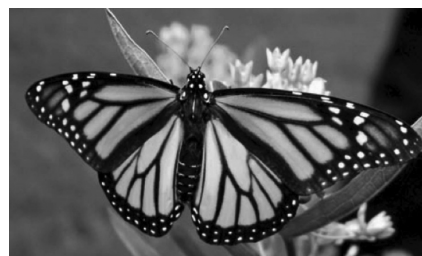


Figura 4. Mariposa monarca, *Danaus plexippus*, cuya sensibilidad en su estado larvario al polen del maíz Bt inició una gran controversia sobre el efecto de este cultivo sobre las poblaciones silvestres de la mariposa.

Fuente: Oberhauser (2007).

Otro caso similar fue el de las crisopas, depredadores generales de plagas pequeñas, del que se reportaron efectos deletéreos al alimentarlas con plagas a las que se les había administrado las toxinas Cry (Hilbeck, Baumgartner, Fried & Bigler, 1998). Después de una serie experimentos sobre el tema, se llegó a la conclusión de que los efectos dañinos detectados originalmente se debían a la baja calidad de las presas que consumían, ya que habían sido expuestas previamente a las toxinas Cry. Más aún, se probó que las toxinas Cry no se unen a las células del intestino de las crisopas, lo cual es un requisito indispensable para que la toxina tenga efecto (Dutton, Klein, Romeis & Bigler, 2002).

Efecto sobre microorganismos

Como se mencionó anteriormente, los cultivos Bt producen las proteínas Cry en sus tejidos. Considerando que hasta la fecha los cultivos Bt registrados producen la proteína Cry en todos sus tejidos, aunque en diferentes niveles de expresión en cada uno de ellos, cabe suponer que estas proteínas podrían permanecer en el campo, junto con los residuos del cultivo, por algún tiempo. Así que cabe preguntar, primero, ¿cuánta proteína Cry permanece en el campo y por cuánto tiempo?, y segundo, ¿qué efecto tendría esa proteína residual en el ambiente? Para responder la primera pregunta se han reportado tanto cálculos teóricos como cuantificaciones en campo, de las cantidades de proteína Cry que permanece en el campo, después de la cosecha. Es importante hacer notar que la proteína Cry se produce en la planta en diferentes niveles a lo largo de su ciclo de crecimiento. Es decir, se ha observado que los cultivos Bt presentan su máxima expresión durante la floración del cultivo, para después disminuir significativamente sus niveles de expresión. Cuando los tejidos de la planta mueren, la proteína Cry también se degrada rápidamente. Se ha calculado que esta degradación rápida, aunque varía para cada cultivo y para cada condición ambiental, es del orden de 50% a 88% (Baumgarte & Tebbe, 2005; Tapp & Stotzky, 1995).

Cálculos teóricos y cuantificaciones realizadas en el campo estiman que por cada hectárea pueden permanecer desde 300 g hasta 1200 g de proteína Cry después de la cosecha. Estos residuos tienen una tasa de degradación variable, pero generalmente sigue un patrón de degradación lenta, al inicio, seguida de una degradación acelerada, para luego continuar con una degradación lenta de aproximadamente el 10% restante de la proteína. La degradación es más rápida si los residuos vegetales son incorporados al suelo, de ahí que el tiempo de degradación media (el tiempo que tarda

en degradarse el 50% de la proteína Cry) puede variar desde 1.6 días, cuando los residuos son incorporados al suelo, hasta 25.6 días, si no lo son. La degradación del 90% de las proteínas Cry residuales puede tardar desde 15 hasta 40 días, e incluso más para algunos casos particulares. Estos casos particulares se han relacionado con la adsorción de las proteínas Cry a partículas de arcilla o de humus, lo que retarda significativamente su degradación por los microorganismos del suelo. Más aún, se ha demostrado que las proteínas adheridas a esas partículas siguen siendo activas, cuando se les administra a insectos susceptibles (Hopkins & Gregorich, 2003; Sims & Ream, 1997).

Por otro lado, el efecto de estos residuos en el suelo se ha estudiado a nivel de los microorganismos y los invertebrados que habitan este medio ambiente. Es pertinente aclarar que *B. thuringiensis* es una bacteria que se le ha asociado comúnmente a la microflora del suelo. De ahí que la existencia de proteínas Cry en este ambiente no debe ser extraña, aún en comunidades naturales. Adicionalmente, los estudios de bioseguridad realizados con productos bioinsecticidas con base en esta bacteria, los cuales se han aplicado en el campo como plaguicidas desde hace casi 50 años, han demostrado su inocuidad hacia las comunidades de microflora y fauna del suelo. Independientemente de estos antecedentes, los residuos de los cultivos Bt depositados en el suelo de los campos agrícolas han sido sujetos a estudios de bioseguridad. En general, los estudios indican que los residuos de los cultivos Bt adicionados al suelo no muestran efecto significativo alguno contra las bacterias, actinomicetos, hongos, protozoarios, algas, nemátodos, colémbolos y lombrices de tierra, habitantes comunes de este hábitat (Blackwood & Buyer, 2004; Griffiths *et al.*, 2006; Mulder, Wouterse, Raubuch, Roelofs & Rutgers, 2006; y 20 estudios adicionales). Aun así, un estudio también muestra que las plantas del maíz Bt muestran menor capacidad para ser colonizadas por micorrizas (Castaldini *et al.*, 2005). Este tipo de resultados, a pesar de que son contradictorios al cúmulo de evidencias presentadas por otros investigadores, deben ser tomados en cuenta y corroborados en forma independiente por la comunidad científica.

Riesgo sobre el desarrollo de resistencia

Otro aspecto de posible riesgo sobre la liberación de los cultivos Bt al campo es la factibilidad de que las plagas susceptibles a las proteínas Cry desarrollen resistencia hacia ellas. Muchos especialistas en el tema consideran

a esta posibilidad como “el talón de Aquiles” de los cultivos Bt. A pesar de que los productos con base en *B. thuringiensis* se utilizan masivamente desde 1959, no fue sino hasta 1988 (McGaughey & Beerman, 1988) cuando se reportó el primer caso de desarrollo de resistencia de una plaga, después de seleccionarla en el laboratorio, y en 1990 se reportó el primer caso de desarrollo de resistencia en el campo (Tabashnik, Cushing, Finson & Marshall, 1990). Cabe mencionar que este último caso sigue siendo el único que se ha reportado hasta la fecha, aunque bajo condiciones controladas de laboratorio se ha logrado desarrollar resistencia en diversas plagas y hacia una variedad de proteínas Cry. Los antecedentes sobre el desarrollo de resistencia a insecticidas indican que si una población de la plaga se expone en forma continua a un insecticida, la plasticidad genética de la población eventualmente permitirá que algunos pocos individuos resistentes se seleccionen a través de las generaciones, para posteriormente conformar una población de individuos resistentes.

Por lo tanto, conociendo que las plagas susceptibles a las toxinas Cry tienen el potencial de desarrollar resistencia hacia ellas, y que los cultivos Bt expondrían en forma continua a las poblaciones de las plagas a la presión de selección de las proteínas Cry, es lógico prever que se combinan las circunstancias para el desarrollo de la resistencia. Es por eso que años antes de la liberación de los cultivos Bt al campo, paneles de expertos se reunieron en diversas ocasiones y bajo los auspicios de diferentes organizaciones, con el objeto de discutir y desarrollar las mejores estrategias que impidieran, o al menos retrasaran, el desarrollo de la resistencia por parte de las plagas. Con este cúmulo de discusiones se llegó a la conclusión de establecer tres estrategias básicas: a) los cultivos Bt deberían sobre-expresar las proteínas Cry a niveles tales que una mínima ingestión del tejido vegetal fuera suficiente para aniquilar al insecto susceptible; b) la preservación de los genes de susceptibilidad de las poblaciones de la plaga (muchísimo más numerosos que los de resistencia) se lograría si se siembra una proporción de plantas no-Bt (refugios) junto con las plantas Bt; y c) se desarrollarían plantas con más de una proteína Cry en la misma planta, lo cual disminuiría drásticamente la posibilidad de que un individuo fuera resistente a ambas toxinas (Davis & Onstad, 2000).

Los cultivos Bt liberados desde 1996 siguieron las primeras dos estrategias, y sólo hasta últimas fechas se han liberado plantas (algodón y maíz) con dos proteínas Cry (Van der Salm *et al.*, 1994). Si bien, la primera estrategia no depende del agricultor, ya que es intrínseca a la planta transformada, la segunda sí, por lo que las

propias compañías productoras de las semillas transgénicas tratan de llevar un control, el cual también está regulado por algunos gobiernos (en Argentina, la segunda estrategia se sigue en forma voluntaria, mientras que en México y Estados Unidos es obligatoria). La proporción de plantas Bt y no-Bt en el campo se estableció en un principio en 80:20%, respectivamente. Sin embargo, esta proporción se ha revisado recientemente a la luz de los resultados obtenidos, y ésta puede llegar a reducirse hasta a 95-5%. Es decir, tanto los consorcios como los gobiernos de los países han mantenido un estricto monitoreo de las poblaciones de las plagas expuestas a los cultivos Bt, con el objeto de detectar el posible desarrollo de resistencia. Un ejemplo digno de mencionar es el programa de cooperación binacional entre el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés) y la Secretaría de Agricultura de México, donde se coordinan esfuerzos para mantener un monitoreo estricto de las plagas de algodón en el norte de nuestro país y el sur de Estados Unidos. Sería conveniente mencionar que más del 50% del algodón sembrado en México es algodón Bt.

Los resultados de estos monitoreos, tanto en nuestro país como en otros donde se siembran cultivos Bt, indican que en ningún caso se ha desarrollado resistencia por parte de las poblaciones de las plagas en el campo en forma espontánea. Sin embargo, recientemente se detectó desarrollo de resistencia en el campo en un maíz Bt invulnerable al gusano de la raíz (coleóptero) en Estados Unidos, bajo condiciones de campo (Gassmann, Petzold-Maxell, Keweshan & Dumbar, 2011).

Riesgo de introgresión del transgén

En lo referente al riesgo de que el gen *cry* de los cultivos Bt sea transferido a alguna otra planta, y que ésta lo exprese, es necesario tomar ciertas precauciones y realizar los estudios apropiados que permitan sustentar las decisiones apropiadas. La posibilidad de que esto ocurra podía conllevar a la formación de una maleza resistente al ataque de fitófagos susceptibles a la proteína Cry, lo que aumentaría su capacidad competitiva como maleza. Como antecedentes, sería necesario advertir que existe la posibilidad, aunque baja, de que algunas plantas sean fertilizadas por polen de otras especies de plantas. Para que esto ocurra es necesario que existan condiciones muy especiales, por ejemplo: a) que estas plantas deban estar muy relacionadas evolutivamente; b) que contengan el mismo número

de cromosomas; c) que haya compatibilidad citológica entre ellas, lo cual permitiría formarse el tubo polínico en una especie diferente; d) que exista sincronía en la maduración de las flores; y e) que compartan el mismo hábitat. Aún con todas estas condiciones que minimizan las posibilidades de una fertilización cruzada entre especies, ésta puede llegar a ocurrir (Vacher *et al.*, 2004).

Los estudios al respecto son pocos, y en ningún caso se ha detectado dicha transferencia genética en el campo en forma espontánea, sólo en condiciones controladas (ver más adelante). De ahí que sea necesario analizar caso por caso, tomando en cuenta las regiones con potencial para que esto ocurra (áreas con plantas silvestres relacionadas al cultivo y con antecedentes de entrecruzamiento), así como realizar estudios bajo condiciones controladas que permitan demostrar que dicho entrecruzamiento pueda ocurrir. Dichos estudios deben incluir un análisis sobre la potencialidad que tiene la planta silvestre para convertirse en maleza, así como la importancia del factor ecológico que se eliminaría. Es decir, si una planta silvestre eventualmente incorpora a su genoma un gen *cry*, la ventaja que le proveería será proporcional a la importancia que tienen los insectos susceptibles a la toxina Cry que se alimentan de esa planta. Mientras dichos estudios no se lleven a cabo, y si los antecedentes existentes indican una posible transferencia genética y una potencial conversión en maleza, sería aconsejable restringir la liberación del cultivo Bt a esas áreas. Eso es lo que ha ocurrido con la restricción de sembrar algodón Bt en algunas áreas del estado de Florida, en los Estados Unidos.

Un ejemplo lo constituye la canola Bt (*Brassica napus*), la cual fue sujeta a entrecruzamiento controlado en invernadero con su contraparte silvestre *Brassica rapa* (Halfhill *et al.*, 2005). El híbrido proveniente de la cruce fue morfológicamente intermedio entre las dos especies, y expresaba la proteína Cry en forma activa. Dos retrocruzas con la parental silvestre fueron suficientes para reconstituir las características silvestres, además de que la planta híbrida presentó menor aptitud adaptativa que cualquiera de sus parentales. El estudio se extendió al campo, demostrando la capacidad de transferir el gen Cry a parientes silvestres de la canola. Esta capacidad de transferencia horizontal de genes hacia parientes silvestres también se ha observado en arroz, donde se han observado frecuencias de transferencia horizontal del orden de 0.011% a 0.046% hacia parientes con características de malezas, y de 1.21% a 2.19% hacia parientes silvestres, aunque no específicamente con los genes *cry* (Lu & Snow, 2005).

El caso del maíz Bt en México cobra particular importancia debido a que en nuestro país se encuentran distribuidos algunos posibles ancestros del maíz (teocintle) en algunas regiones, los cuales crecen en forma silvestre, o incluso en asociación con cultivos de maíz. Si bien, existen antecedentes que indican la incompatibilidad de algunas especies de teocintle con el maíz cultivado, y que en los casos en que se ha observado fertilización cruzada, las características híbridas se pierden durante las siguientes generaciones, sería necesario realizar una serie de estudios específicos que fundamenten la factibilidad de dicho riesgo, y de que ocurra realmente una introgresión en las poblaciones silvestres (Kermicle, Taba & Evans, 2006). Por lo pronto se sabe que la distribución natural del teocintle se circunscribe casi en su totalidad al cinturón neovolcánico de nuestro país, con algunas pocas y restringidas excepciones hacia el norte y sur de la república (Hufford, Bilinski, Pyhäjärvi & Ross-Ibarra, 2012). También se sabe que, en forma extraordinaria, el polen del maíz puede llegar a ser funcional hasta una distancia de 50 m del campo de cultivo, siendo sólo algunos metros lo normal. De ahí que, salvo un análisis más detallado, se podría concluir que la mayor parte del país podría potencialmente quedar libre del riesgo de transferencia de genes al teocintle nativo. Por otro lado, es conocida la capacidad de los transgenes de ser transferidos a razas criollas de maíz, como fue ampliamente publicitado (Quist & Chapela, 2001). En este sentido, habría que hacer un análisis objetivo acerca de que si esto realmente constituye una desventaja para los campesinos que cultivan estas razas de maíz. También es necesario realizar un análisis sobre las diferencias en el riesgo para cada transgén; es decir, existe una gran diferencia entre transferir un gen *cry* y un gen de resistencia a herbicidas.

CONCLUSIONES

En conclusión, la revisión de los reportes relacionados con los riesgos de liberar cultivos Bt al campo, tanto sobre la salud humana y de los animales domésticos, así como sobre el medio ambiente, indican que éstos son bajos o nulos. Algunos aspectos de salud, sobre todo aquéllos relacionados con la alergenicidad de las proteínas Cry, deberán seguirse revisando en forma periódica, a pesar de que las evidencias, apoyadas por estudios confiables y bien documentados, indican que no se han desarrollado alergias en la población humana. En lo que respecta a la posible transferencia del gen *cry* a otras plantas, será necesario analizar caso por caso, especialmente la posibilidad de transferencia del gen al teocintle en nuestro país, así como el análisis de las posibles

consecuencias, en caso de que esto ocurra. También, a pesar de que el efecto dañino hacia las poblaciones de insectos no-blanco es mínimo o nulo, se deberá continuar con las observaciones sobre casos específicos. Esto sobre todo porque recientemente se han reportado efectos de proteínas Cry con un rango más amplio de lo que se creía. Afortunadamente, esta ampliación incluyó a otras plagas, y no a enemigos naturales de éstas. De la misma forma, habrá que continuar con el monitoreo de las plagas sujetas a presión de selección de los cultivos Bt, con el objeto de detectar cualquier posible brote de resistencia en alguna región específica. Finalmente, hasta la fecha, se puede afirmar que los cultivos Bt ofrecen una alternativa viable y segura para contrarrestar el efecto pernicioso de las plagas de insectos. Su utilización disminuye las aplicaciones de insecticidas químicos en el campo, cuyo efecto dañino a la salud humana, a la de los animales domésticos y al medio ambiente, son ampliamente conocidos. La transgénesis sigue ofreciendo alternativas importantes para la resolución de muchos problemas agrícolas del mundo, en general, y de nuestro país, en particular. Cerrarse a esta posibilidad implicaría cerrarse al desarrollo tecnológico de nuestra época, con el consecuente retraso económico y social. Es responsabilidad de la comunidad científica no sólo promover el desarrollo de estas nuevas tecnologías, sino también evaluar sus beneficios y posibles riesgos. Es responsabilidad de los gobiernos salvaguardar la seguridad, la salud y el entorno de sus gobernados. También es deber de los gobiernos promover el desarrollo tecnológico que permita mejorar las condiciones de vida de sus gobernados. La confluencia de estas dos premisas se hace tangible en el uso de las plantas transgénicas, como alternativa para el mejoramiento de la agricultura en México.

REFERENCIAS

- Baumgarte, S., & Tebbe, C. (2005). Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. *Molecular Ecology*, 14, 2539-2551. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02592.x
- Beegle, C. C., & Yamamoto, T. (1992). History of *Bacillus thuringiensis* Berliner Research and Development. *Can Entertainment*, 124, 587-616.
- Bernstein, J. A., Bernstein, I. L., Bucchini, L., Goldman, L. R., Hamilton, R. G., Lehrer, S., Rubin, C., & Sampson, H. A. (2003). Clinical and laboratory investigation of allergy to genetically modified foods. *Environ Health Perspect*, 111(8), 1114-1121.
- Bhandary, J. (2010). *Transgenic plants*. Recuperado el 2 de mayo de 2010 de <http://bhandarybioclass.blogspot.mx/2010/05/transgenic-plants.html>
- Bishop, A. H., Johnson, C., & Perani, M. (1999). The safety of *Bacillus thuringiensis* to mammals investigated by oral and subcutaneous dosage. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15(3), 375-380. doi: 10.1023/A:1008983818692
- Blackwood, C., & Buyer, J. (2004). Soil microbial communities associated with Bt and non-Bt corn in three soils. *Journal of Environmental Quality*, 33, 832-836.
- Brake, J., Faust, M., & Stein, J. (2005). Evaluation of transgenic hybrid corn (VI-P3A) in broiler chickens. *Poultry Science*, 84(3), 503-512.
- Candolfi, M., Brown, K., Grimm, C., Reber, B., & Schmidli, H. (2004). A faunistic approach to assess potential side-effects of genetically modified Bt-corn on non-target arthropods under field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 14(2), 129-170. doi: 10.1080/09583150310001655701
- Castaldini, M., Turrini, A., Sbrana, C., Benedetti, A., Marchionni, M., Mocali, S., Fabiani, A., Landi, S., Santomassimo, F., Pietrangeli, B., Nuti, M. P., Miclaus, M. P., & Giovannetti, M. (2005). Impact of Bt corn on rhizospheric and soil eubacterial communities and on beneficial mycorrhizal symbiosis in experimental microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11), 6719-6729.
- Chen, D., Ye, G., Yang, C., Chen, Y., & Wu, Y. (2005). The effect of high temperature on the insecticidal properties of Bt cotton. *Environmental and Experimental Botany*, 53, 333-342. doi: 10.1016/j.envexpbot.2004.04.004
- Chowdhury, E. H., Kuribara, H., Hino, A., Sultana, P., Mikami, O., Shimada, N., Guruge, K. S., Saito, M., & Nakajima, Y. (2003). Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11. *Journal of Animal Science*, 87(10), 2546-2551.
- Cockburn, A. (2002). Assuring the safety of genetically modified (GM) foods: the importance of an holistic, integrative approach. *Journal of Biotechnology*, 98(1), 79-106.
- Crickmore, N., Baum, J., Bravo, A., Lereclus, D., Narva, K., Sampson, K., Schnepf, E., Sun, M., & Zeigler, D. R. (2014). *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. Recuperado el 5 de agosto de 2015 de <http://www.btnomenclature.info/>
- Davis, P. M., & Onstad, D. (2000). Seed mixtures as a resistance management strategy for European corn borers (Lepidoptera: Crambidae) infesting transgenic corn expressing Cry1Ab protein. *Journal of Economic Entomology*, 93(3), 937-948.
- Duggan, P. S., Chambers, P. A., Heritage, J., & Forbes, J. M. (2003). Fate of genetically modified maize DNA in the oral cavity and rumen of sheep. *British Journal of Nutrition*, 89(2), 159-166.
- Dutton, A., Klein, H., Romeis, J., & Bigler, F. (2002). Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology*, 27(4), 441-447. doi: 10.1046/j.1365-2311.2002.00436.x
- Fares, N. H., & El-Sayed, A. K. (1998). Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes. *Natural Toxins*, 6(6), 219-233.

- Folmer, J. D., Grant, R. J., Milton, C. T., & Beck, J. (2002). Utilization of Bt corn residues by grazing beef steers and Bt corn silage and grain by growing beef cattle and lactating dairy cows. *Journal of Anim Science*, 80(5), 1352-1361.
- Gassmann, J. A., Petzold-Maxell, J. L., Keweshan, R. S., & Dumber, M. W. (2011). Field-Evolved Resistance to Bt Maize by Western Corn Rootworm. *PLoS ONE*, 6(7), 1-7.
- Gatehouse, A. M., Ferry, N., & Raemaekers, R. J. (2002). The case of the monarch butterfly: a verdict is returned. *Trends in Genetics*, 18(5), 249-251.
- Gilbert, N. (2013). Case studies: A hard look at GM crops. *Nature*, 497(7447), 24-26. doi: 10.1038/497024a
- Green, M., Heumann, M., Sokolow, E., Foster, L. R., & Skeels, M. (1990). Public health implications of the microbial pesticide *Bacillus thuringiensis*: an epidemiological study. Oregon, 1985-86. *American Journal of Public Health*, 80(7), 848-852.
- Griffiths, B., Caul, S., Thompson, J., Birch, A. N. E., Scrimgeour, C., Cortet, J., Foggo, A., Hackett, C. A., & Henning Krogh, P. (2006). Soil microbial and faunal community responses to Bt maize and insecticide in two soils. *Journal of Environmental Quality*, 35(3), 734-741.
- Grunewald, W., Bury, J., & Inzé, D. (2013). Biotechnology: Thirty years of transgenic plants. *Nature*, 497(7447), 40. doi: doi:10.1038/497040a
- Halfhill, M. D., Sutherland, J. P., Moon, H. S., Poppy, G. M., Warwick, S. I., Weisinger, A. K., Rufty, T. W., Raymer, P. L., & Stewart Jr., C. N. (2005). Growth, productivity, and competitiveness of introgressed weedy *Brassica rapa* hybrids selected for the presence of Bt cry1Ac and gfp transgenes. *Molecular Ecology*, 14(10), 3177-3189
- Head, G., Moar, W., Eubanks, M., Freeman, B., Ruberson, J., Hagerty, A., & Turnipseed, S. G. (2005). Multiyear, large-scale comparison of arthropod populations on commercially managed Bt and non-Bt cotton fields. *Environmental Entomology*, 34(5), 1257-1266.
- Hellmich, R. L., Siegfried, B. D., Sears, M. K., Stanley-Horn, D. E., Daniels, M. J., Mattila, H. R., Spencer, T., Bidne, K. G., & Lewis, L. C. (2001). Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(21), 11925-11930.
- Hilbeck, A., Baumgartner, M., Fried, P. M., & Bigler, F. (1998). Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 27(2), 480-487.
- Hodgson, J. (1999). Monarch Bt-corn paper questioned. *Nature Biotechnology*, 17(7), 627.
- Hodgson, J. (2008). Scientists cry foul as Europe plays politics with GM crops. *Nature Biotechnology*, 26, 139-140. doi: 10.1038/nbt0208-139
- Hopkins, D. W., & Gregorich, E. G. (2003). Detection and decay of the Bt endotoxin in soil from a field trial with genetically modified maize. *European Journal of Soil Science*, 54(4), 793-800.
- Hossain, F., Pray, C. E., Lu, Y., Huang, J., Fan, C., & Hu, R. (2004). Genetically modified cotton and farmers' health in China. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 10(3), 296-303.
- Huang, J., Hu, R., Rozelle, S., & Pray, C. (2005). Insect-resistant GM rice in farmers' fields: assessing productivity and health effects in China. *Science*, 308(5722), 688-690.
- Hufford, M. B., Bilinski, P., Pyhäjärvi, T., & Ross-Ibarra, J. (2012) Teosinte as a model system for population and ecological genomics. *Trends in Genetics*, 28(12), 606-615. doi: 10.1016/j.tig.2012.08.004
- Ibarra, J. E. (2007). Uso de bacterias en el control biológico (Capítulo 10). En L. A. Rodríguez-del-Bosque & H. C. Arredondo-Bernal (Eds.), *Teoría y aplicación del control biológico*. México: Prometeo Editores.
- Kermicle, J., Taba, L. S., & Evans, M. M. S. (2006). The *gametophyte-1* locus and reproductive isolation among *Zea mays* subspecies. *Maydica*, 51(2), 219-225.
- Li, Y., Peng, Y., Hallerman, E. M., & Wu, K. (2014). Biosafety management and commercial use of genetically modified crops in China. *Plant Cell Reports*, 33(4), 565-573. doi: 10.1007/s00299-014-1567-x
- Losey, J., Rayor, L.S., & Carter, M. E. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 399(6733), 214.
- Lu, B. R., & Snow, A. A. (2005). Gene Flow from Genetically Modified Rice and Its Environmental Consequences. *BioScience*, 55, 669-678.
- Lutz, B., Wiedemann, S., Einspanier, R., Mayer, J., & Albrecht, C. (2005). Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize in the bovine gastrointestinal tract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1453-1456.
- Marvier, M., McCreedy, C., Rgetz, J., & Kareiva, P. (2007). A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. *Science*, 316(5830), 1475-1477. doi: 10.1126/science.1139208
- McGaughey, W. H., & Beerman, R. W. (1988). Resistance in *Bacillus thuringiensis* in Colonies of Indianmeal Moth and Almond Moth (Lepidoptera:Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, 81(1), 28-33.
- Mulder, C., Wouterse, M., Raubuch, M., Roelofs, W., & Rutgers, M. (2006). Can transgenic maize affect soil microbial communities?. *PLoS Computational Biology*, 2(9), e128. doi: 10.1371/journal.pcbi.0020128
- Oberhauser, K. (2007). *Monarch butterfly facts*. Recuperado el 15 de mayo de 2009 de https://www.learner.org/north/tm/monarch/fact_page.html
- Oberhauser, K. S., Prisby, M. D., Mattila, H. R., Stanley-Horn, D. E., Sears, M. K., Dively, G., Olson, E., Pleasants, J. M., Lam, W. K. F., & Hellmich, R. L. (2001). Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(21), 11913-11918.
- Orlandi, P. A., Lampel, K. A., South, P. K., Assar, S. K., Carter, L., & Levy, D. D. (2002). Analysis of Flour and Food Samples for cry9C from Bioengineered Corn. *Journal of Food Protection*, 65(2), 426-431.
- Quist, D., & Chapela, H. (2001). Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature*, 414, 541-543. doi: 10.1038/35107068
- Romeis, J., Dutton, A., & Bigler, F. (2004). *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1Ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Insect Physiology*, 50, 175-183.

- Shewry, P. R., Tatham, A. S., & Halford, N. G. (2001). Genetic modification and plant food allergens: risks and benefits. *Journal of Chromatography B*, 756(1-2), 327-335.
- Sierra-Martínez, P., Ibarra, J. E., De la Torre, M., & Olmedo, G. (2004). Endospore degradation in an oligosporogenic, crystalliferous mutant of *Bacillus thuringiensis*. *Current Microbiology*, 48(2), 153-158.
- Sims, S. R., & Ream, J. E. (1997). Soil inactivation of the *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* cryIIA insecticidal protein within transgenic cotton tissue: laboratory microcosm and field studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1502-1505. doi: 10.1021/jf960647w
- Siruguri, V., Sesikeran, B., & Bhat, R. V. (2004). Starlink genetically modified corn and allergenicity in an individual. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(5), 1003-1004.
- Stanley-Horn, D. E., Dively, G. P., Hellmich, R. L., Mattila, H. R., Sears, M. K., Rose, R., Jesse, L. C. H., Losey, J. E., Obrycki, J. J., & Lewis, L. (2001). Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proceedings of the National Academy of Science*, 98(21), 11931-11936. doi: 10.1073/pnas.211277798
- Sutton, S., Assaad, A. H., Steinmetz, C., & Rothenberg, M. E. (2003). A negative double-blind, placebo-controlled challenge to genetically modified corn. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112(5), 1011-1012. doi: 10.1016/S0091-6749(03)02024-4
- Székács, A., & Darvas, B. (2012). Comparative Aspects of Cry Toxin Usage in Insect Control. In I. Ishaaya, S. R. Palli & A. R. Horowitz (Eds.), *Advanced Technologies for Managing Insect Pests* (pp. 195-230). Springer.
- Tabashnik, B. E., Brévault, T., & Carrière, Y. (2013). Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. *Nature Biotechnology*, 31(6), 510-521.
- Tabashnik, E. B., Cushing, N. L., Finson, N., & Marshall, J. W. (1990). Field Development of Resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, 83(5), 1671-1676.
- Tapp, H., & Stotzky, G. (1995). Dot blot enzyme-linked immunosorbent assay for monitoring the fate of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(2), 602-609.
- Vacher, C., Weis, A. E., Hermann, D., Kossler, T., Young, C., & Hochberg, M. E. (2004). Impact of ecological factors on the initial invasion of Bt transgenes into wild populations of birdseed rape (*Brassica rapa*). *Theoretical and Applied Genetics*, 109(4), 806-814.
- Vaeck, M., Reynaerts, A., Höfte, H., Jansens, S., De Beuckeleer, M., Dean, C., Zabeau, M., Van Montagu, M., & Leemans, J. (1987). Transgenic Plants Protected from Insect Attack. *Nature*, 328(6125), 33-37. doi: 10.1038/328033a0
- Van der Salm, T., Bosch, D., Honee, G., Feng, L., Munsterman, E., Bakker, P., Stiekema, W. J., & Visser, B. (1994). Insect resistance of transgenic plants that express modified *Bacillus thuringiensis* cryIA(b) and cryIC genes: a resistance management strategy. *Plant Molecular Biology*, 26(1), 51-59.
- Wipfli, M. S., & Merrott, R. W. (1994). Effects of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* on nontarget benthic insects through direct and indirect exposure. *Journal of the North American Benthological Society*, 13(2), 190-205. doi: 10.2307/1467238